السموم الفطرية

وصحة الإنسان والبيئة

Mycotoxins

Human Health and Environment







الأستاذ الدكتور

محمد عبد الفتاح طه دشيش

قسم كيمياء وسمية المبيدات

كلية الزراعة - جامعة الإسكندرية







السموم الفطرية
وصحة الإنسان والبيئة

السموم الفطرية
وصحة الإنسان والبيئة

Mycotoxins
Human Health and Environment

الاستاذ الدكتور

محمد عبد الفتاح طه دشيش

قسم كيمياء وسمية المبيدات

كلية الزراعة – جامعة الإسكندرية





اسم الكتاب: السموم الفطرية وصحة الإنسان والبيئة

المؤلف: الاستاذ الدكتور/ محمد عبد الفتاح طه دشيش

2015

رقم الايداع : ٧٣٤٤ / ٢٠١٤

الترقيم الدولى : I.S.B.N. 978 977 - 393- 168- 7

الفهرسة: السموم الفطرية وصحة الإنسان والبيئة،
دشيش ، محمد عبد الفتاح طه
بستان المعرفة ٢٠١٥
٢٩٦ ص ١٧ * ٢٤.٥

تدمك :٧-١٦٨ـ ٣٩٣ ـ ٩٧٧ - ٩٧٨

العنوان- كفر الدوار ـ الحدائق ـ ٨٦ ش الحدائق أمام أبراج الحلوانى

الناشر
مكتبة بستان المعرفة
ج. م .ع.- كفر الدوار- الحدائق -أمام أبراج الحلوانى
☎ : ٠٤٥/٢٢٠٢٦٢٩ & الإسكندرية ٠١٢١١١٥١٢٣٧
E-mail: bostan_elma3rafa@yahoo.com

الطباعة و التجهيزات الفنية:

دار الجامعيين لطباعة والتجليد الإسكندرية


بسم الله الرحمن الرحيم

الإهداء

أهدى هذا المؤلف إلى:

- روح والدتي ووالدي يرحمهما الله سبحانه العلى القدير.
- زوجتي وأولادي نهى ، أحمد ، منه الله ، مي.

المحتويات

المقدمة

أصبحت السموم الفطرية Mycotoxins من الموضوعات الهامة التي يتناولها الجميع ولقد تم إعداد هذا الكتاب لمن يرغب في المعرفة والبحث في مجال السموم الفطرية وعلاقتها بصحة الإنسان والبيئة والنظم البيولوجية.

ويعتبر هذا الكتاب من القلائل باللغة العربية في هذا المجال. وتم الاستعانة بالمصطلحات الكيميائية والبيولوجية باللغة العربية والانجليزية في نفس الوقت مع الاهتمام بالتركيب الكيميائي وميكانيكية التأثير.

أهم السموم الفطرية في هذا الكتاب:

Aflatoxins, Patulin, Ochratoxins, Zearlenones, Trichothecenes, Fumonisin

وجميع المشتقات والنواتج الحيوية الخاصة بتلك المركبات.

يبدأ هذا الكتاب بتمهيد عن الفرق بين الفطريات المنتجة وغير المنتجة للسموم الفطرية، ثم المحاولات المبكرة لإثبات وجود السموم الفطرية ومدى استعمال السموم الفطرية كسلاح بيولوجي. التعرف على السموم الفطرية وتصنيفها. مع الاهتمام بالسموم الفطرية الرئيسية وعلاقة السموم الفطرية بصحة الإنسان وأنواع الأمراض وأعراضها التي تصيب الإنسان بسبب السموم الفطرية والنواتج الحيوية للأفلاتوكسين وعلاقتها بسرطان الكبد وأعراض السرطان الأخرى والعلاقة مع الفيروسات والمتطفلات ومتبقياتها في أنسجة الحيوانات وتواجد السموم الفطرية في سلسة الطعام والبيئات الداخلية والأمراض التي تصيب الحيوانات بسبب السموم الفطرية مع تقسيم السموم الفطرية طبقاً لمواضع التأثير. كذلك تم الاهتمام بميكانيكية التأثير البيوكيميائى للسموم الفطرية علاقتها بالإنسان التأثير على DNA، RNA، تخليق البروتين، الكربوهيدات، الليبيدات، الأكسدة الفسفورية والتأثيرات الهرمونية ومع مستوى الإنتقال: مع الاهتمام بمسببات السموم الفطرية. هذا إلى جانب نظرة عن طرق تحليل التلوث بالسموم الفطرية في الذرة وفول السوداني بالطرق القياسية. كذلك علاقة الإصابة الحشرية بالتلوث الفطري والتداخل بين

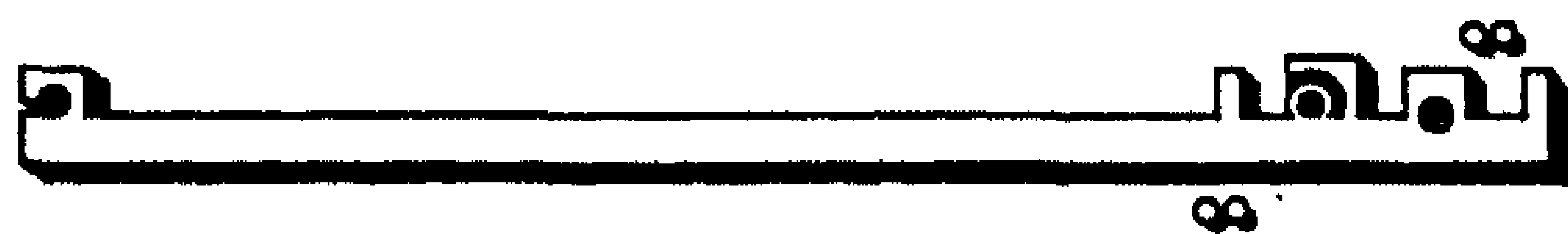
الحشرات والسموم الفطرية وميكانيكيه إزالة سمية السموم الفطرية بواسطة الحشرات، الاهتمام بالسموم الفطرية في اللحوم ومنتجات اللحوم المصنعة. كيفية منع وخفض السموم الفطرية وكذلك كيمياء ومكافحة السموم الفطرية وتأثيرها على صناعة الغذاء. ومن ناحية أخرى اهتم الكتاب بالتشريعات الخاصة بالسموم الفطرية على مستوى العالم في الاتحاد الأوربي وفى دول أوربا وأفريقيا وأسيا والولايات المتحدة الأمريكية. وتم الاستعانة ببعض الأمثلة المصورة لبعض الفطريات المنتجة للسموم الفطرية على المحاصيل المختلفة مقارنة لصور أخرى لفطريات غير منتجة للسموم الفطرية. وفى النهاية المراجع العالمية التي تم الاستعانة بها في هذا المجال.

الحمد لله العظيم القدير وشكراً على فضله وتوفيقه أنه نعم المولى والنصير.

أتمنى أن يكون هذا المؤلف هو بداية طيبة في مصر والدول العربية في مجال السموم الفطرية باللغة العربية كيميائياً وبيولوجيا .

المؤلف

أ.د. محمد عبد الفتاح طه دشيش


تمهيد

تمهيـــــــــــــد

الأمراض الفطرية هي عامل مشترك فى النباتات والحيوانات، تنمو الفطريات بنشاط على الجسم وتهاجمه او تغزوه من عائلها، وهناك وسيلة أخرى يمكن للفطريات أن تسبب ضررا بدون غزو جسم الإنسان. عندما تنمو الفطريات على الكائنات الحية أو على المواد الغذائية المخزونة التى يستهلكها الإنسان أو الحيوان فقد تفرز نواتج (ميتابوليت) ضاره والتى تنتشر فى الطعام. ويعتقد أن الفطريات تطور من الميتابوليت الخاص بها كوسيلة لحماية إمداداتها من الطعام بواسطة منع الكائنات الاخرى من أكله، وهذه الميتابوليت هى السموم الفطرية mycotoxins بمعنى سموم الفطر fungal poisons. الفطريات المنتجة للـ mycotoxins لا تحدث ضررا فى بيئة غير صالحة لنمو الفطريات، ولكن فى حالة نمو الفطريات فإنها تنتج السموم الفطرية التى تسبب سمية للحبوب فى حالة النمو فى مخزن للحبوب. فى بعض الأحوال نجد أن بعض الأشخاص التى تبحث عن توفير القليل من المال عن طريق شراء الجبن التى قد تلوثت بنوع من الفطريات، ثم تقطع الجزء المصاب بالفطر وتستهلك (تأكل) الجزء المتبقى، فإن ذلك فكرة غير جيده حيث من الممكن أن تنتج الفطريات سموما تنتشر فى جميع أنحاء الجبن حتى لو لم تكن الفطريات نفسها موجوده فى الجزء المتبقى. تأثير التسمم بالسموم الفطرية mycotoxicoses هو نتيجة لفعل الفطريات نسبيا، والأمراض الناتجة تكون بسبب استهلاك السموم الفطرية المنفردة بواسطة الفطريات وليست نتيجة مباشره من الفطريات وهذا فى حد ذاته ليست مهمة سهله. مجال البحث بالسموم الفطرية كبير جداً وعلى ذلك فإن الهدف هو إعطاء فكرة عن قائمة بالأنواع الفطرية المنتجة للسموم وملامح السمية المرتبطة بها، والتركيب الكيميائي والحيوي للسموم الفطرية .

على وجه العموم الفطريات هى إحدى العائلات النباتية الشائعة على الأرض ولكنها لا تحتوى كلوروفيل ويمكن أن تنمو فى ظروف

غير ضوئية طبيعية أو فى ضوء قليل. تتراوح الفطريات من خلايا فردية الى هيفات متفرعة (خيوط أنبوبية tubular filaments) والتى تنتج فى الغالب أجسام مثمرة التى تؤدى الى تكوين فطريات العفن molds، عش الغراب mushroom، فطريات الصدأ smut. تمتص الفطريات غذائها إما من العائل الحى أو الميت. تحدث الأعراض وظهور المرض نتيجة نمو الفطريات من التداخل بين العائل والطفيل. الفطريات تنتج ميتابوليت (نواتج ثانوية للنمو) والتى تكون سامة للإنسان والحيوانات، ويحدث التكاثر فى الفطريات من خلال إنتاج الجراثيم spores والتى تتكاثر لا جنسياً asexual reproduction.

الحجم الصغير للجراثيم يساعد على انتشارها وتنقل هوائياً وتتحرك بواسطة الرياح من مكان إلى آخر، ويمكن أيضاً تكون مصاحبة للحشرات والطيور والتى بالتالى تنقلها من نبات إلى نبات آخر، وقد يحدث انتقال الفطريات أيضاً المعدات الملوثة. تحدث الإصابة الفطرية من الجراثيم عند أى مرحلة من مراحل نمو النبات وإنتاج المحصول، والتى قد تبدأ فى الحقول في أو على المحصول نفسه، وقد تحدث إصابة المنتجات السليمة أثناء النقل والتخزين بواسطة التلامس مع المعدات الملوثة. قد تبقى الجراثيم غير نشطة فى التربة أو تتراكم على المعدات أو فى وسائل التخزين لمدة شهور وفى بعض الأحيان لسنوات حتى تتوفر الظروف المناسبة لحدوث النمو والإصابة.

يوجد كثير من ظروف بيئية متغيرة تكون لازمة قبل إنبات أو بداية نمو الجراثيم فمثلا الرطوبة النسبية relative humidity أكبر من 70 %، درجة الحرارة أكبر من 30°C (86°F) لفترات ممتدة من أيام الى أسبوع. وجود النبات فى ظروف قاسية مثل ظروف الجفاف، الفيضان ن الإصابات الحشرية تعتبر من عوامل دورة النمو الفطرية، وكذلك فإن المحتوى الرطوبى moisture content فى المحصول (20 % أو أعلى فى الذرة) فى الوقت الأمثل للحصاد توفر للجراثيم العوامل الضرورية لبدء عملية النمو. وتلك العوامل

مجتمعة تكون ضرورية لبداية دورة النمو الفطرى الذى يتمَ بعدها الضرر بالمحصول. التجفيف الذى يقللَ المحتوى الرطوبى الى نقطة يكون عندها يتم منع نمو العفن أو على الأقل إيقاف حدوث ضرراً إضافيا.

تنمو الفطريات والعفن ذات النمو الزغبى الرمادي على الطعام الذى يترك فى الثلاجة لمدة طويلة، وليس من الضرورى أن يكون العفن والفطريات ظاهرة للعين المجردة لكى تنمو وتصيب الأغذية والمحاصيل، حيث أن كثير من جراثيم الفطريات الفطريات تكون صغيرة الحجم لا يمكن رؤيتها بدون ميكروسكوب ولكن فى المراحل الأخيرة من النمو عندما تتكون كتل فطرية كبيرة تصبح مرئية للعين.

من ناحية أخرى ليس من الضرورى وجود سموم فطرية mycotoxins فى وجود العفن المرئى فى منتجات الحبوب أو العلف. كثير من الفطريات تنمو فى ظروف متماثلة ويمكن أن يتواجد أكثر من نوع من الفطريات فى نفس الوقت على منتجات الحبوب أو العلف. وفى حالة تواجد أكثر من نوع من الفطريات على عائل واحد فقد تزيد التأثير السام لكل منها بواسطة مهاجمة جميع وظائف الجسم عند أكلها بواسطة الإنسان أو الحيوان، كما يمكن أن تلغى بعضها الآخر بواسطة نمو ومهاجمة البعض للآخر أثناء عملية النمو. من ناحية أخرى، فإن قلة رؤية العفن لا يعنى عدم وجود سموم فطرية mycotoxins حيث أنه فى كثير من الأوقات أثناء الحصاد أو التداول يتم مسح العفن ولكن تظل النواتج الثانوية (الميتابوليت) فى الحبوب. وتحدث إصابة الإنسان بالسموم الفطرية بطرق مختلفة تشمل تناولها مع الطعام، التلامس معها، استنشاقها، ولكن معظم الدراسات اهتمت بتناول الطعام الملوث.

السموم الفطرية تتميز بخواص كيميائية وفيزيائية مختلفة وتظهر مدى واسع من التأثيرات الحادة والمزمنة على صحة الإنسان والحيوانات. السموم الفطرية ثابتة نسبياً مع الحرارة ولا تتحطم بشكل

ملحوظ بواسطة عمليات الطهى العادية. تأثير السموم الفطرية على الصحة العامة قد يشمل :

١- السرطانات Cancers
٢- ضرر للمادة الوراثية Genetic material damage
٣- تلف الكبد Liver damage
٤- تلف الكلية Kidney damage
٥- تلف الأنسجة العصبية Nerve tissue damage
٦- خلل الولادة Birth defects
٧- نقص المناعة Reduced immune function

الفطريات غير المنتجة للسموم الفطرية:

Non – Mycotoxic Fungi:

من المعروف أن الفطريات هى سبب أساسى لتلف الحبوب المخزونة ولقد حدد اتحاد الغذاء والزراعة العالمى أن 25% من محاصيل الغذاء فى العالم تتأثر بواسطة السموم الفطرية أثناء النمو والتخزين.

يوجد فطريات تسبب ضرراً للمحاصيل نفسها مع تأثير سام ضعيف أو عدم وجود تأثير سام على الإنسان والحيوانات، على سبيل المثال:

١- مرض الصدأ العام : Common Smut or Bunt

مرض الصدأ العام يسببه نوعان من الفطريات هما

T.leavis , Tilletia triticia

وهذا المرض يلزمه ظروف تربة رطبة باردة، وعلى ذلك يكون أقل مشاكل على القمح الذى يزرع فى الربيع عن قمح الشتاء. ومرض الصدأ العام يقلل إنتاج القمح ونوعية الحبوب، حيث أن القمح الملوث بجراثيم هذا المرض يكون له رائحة قوية نفاذة ومظهر داكن. عموماً القمح ذو الرائحة الواضحة لمرض الصدأ يميز بـ light smutty على شهادات الفحص الرسمية. ومن ناحية أخرى فإن جراثيم مرض

الصدأ المنطلقة أثناء عمليات الضم والحصاد تكون قابلة للاحتراق، وقد تسبب حرائق أثناء الحصاد بإستخدام آلات حصاد ميكانيكية.

النباتات المصابة تكون متقزمة stunted ولا يمكن تمييز الإصابة حتى يظهر الطرف العلوى heads. الأطراف العلوية المصابة بالصدأ bunted heads تكون حلزونية وتحتفظ بلونها الخضر مدة أطول عن السليمة، المحيط الخارجى للسنبلة قد يبتعد عن كرات الصدأ smut balls المتواجدة وهذه الكرات تأخذ تقريبا شكل الحبوب العادى ويكو لونها باهت من البنى الى الرمادى، وعند الحصاد تتمزق الكرات الصغيرة وينفرد منها جراثيم سوداء فى صورة مسحوق. القمح المحتوى smut balls يميز بـ light smutty الذى يحتوى (6 – 30 smut balls) أو smutty (31 or more smut balls) على شهادات الفحص الرسمية.

٢- مرض التقزم الصدأى: Dwarf Bunt or TCK Smut

بعض الأنواع الفطرية من الجنس *Tilletia sp.* تسبب هذا النوع من الصدأ فى القمح والشعير والشوفان.
Tilletia controversa هو فطر معروف أساساً بأنه المسبب لـ dwarf bunt or TCK smut والذى يسبب تقزماً فى نمو النبات نفسه مع نقص الناتج. المصدر الرئيسى لإنتقال الإصابة يكون بواسطة الجراثيم غير النشطة الموجودة فى التربة حتى المحصول فى السنة التالية.

٣- مرض بطحة الحبوب : Kernel Bunt

يعتقد أن منشأ هذا المرض فى الهند ويسمى *Tilletia indica* ولكنه تم اكتشافه أيضاً فى أماكن أخرى فى العالم. جراثيم هذا المرض تنتقل هوائياً ولكن الإصابة تحدث عن طريق الزراعة فى تربة ملوثة أو استعمال بذور ملوثة والتلامس مع معدات ملوثة، وتهاجم الجراثيم الحبوب داخل السنبلة مع عدم ظهور علامات

خارجية لأعراض الإصابة أو أعراض بسيطة. تنكمش الحبوب المصابة عند نهاية التجرثم وتغطى بخيوط أنبوبية تشبه الشعر الأبيض والتى تؤدى الى تلف الدقيق المصنوع من الحبوب المصابة، وهذه الحبوب المصابة يصبح لها رائحة وطعم سمكى يجعل دقيقها غير عملى للاستعمال.

٤ـ مرض القمة السوداء / النقطة السوداء:
Black Tip / Black point:

فطر القمة السوداء يهاجم القمح والشعير، الاسم Black Tip أو Black point يرجع الى عدد من أنواع العفن التى تكون عفن بنى غامق الى أسود. توجد أنواع رئيسية مسئولة عن الإصابة تابعة لكل من *Alternaria*, *Fusarium*, *Helminthosporium* ويعتبر *Helminthosporium* هو الجوهر المسبب لإصابة القمح، والأنواع الشائعة من هذا الفطر تكون مصحوبة بتربة ساخنة جافة. الرطوبة فى هذه الحالة تكون فى صورة المطر أو فترات ممتدة من الرطوبة العالية (فوق 90%) ثم يبدأ المرض على الحبوب البالغة النمو الذى يؤدى الى تلف لون البذور وتصبح رائحتها غير مناسبة للتسويق. هذا المرض يكون مصحوباً بلفحة على البادرات وعفن الجذور مما يؤثر على سلامة النبات وزيادة حساسيته لأمراض النبات والعفن الأخرى.

٥ـ عفن العين الأزرق Blue-Eye Rot

يحدث هذا العفن في الذرة المخزن بمحتوى رطوبى عالي والذي يحدث بواسطة أنواع من الـ *Penicillium* وتتميز الإصابة بتغيير اللون الأخضر إلى الأزرق وذلك عندما تهاجم الفطريات الـ germ area من خلال قمة الحبوب.

٦- صدأ الذرة Corn Smut

يحدث هذا الصدأ بواسطة *Ustilage maydis* الذى يوجد دائماً فى حقول الذرة. لم يلاحظ تأثيرات ضارة على الحيوانات التى تتغذى على العلف المصنوع من الـ Smutty corn.

وفى معظم الحالات فإن جراثيم العفن تكون فى الجو فى أى مكان تبحث عن الرطوبة اللازمة للنمو. الأخشاب الرطبة إذا لم يتم تجفيفها فى خلال 48-24 ساعة فقد تنمو فطريات العفن عليها، ومع الوقت يصبح العفن مرئياً ويبدأ فى تكوين مستعمرات داخل الحوائط والسقف والأرضيات، وقد يبدأ العفن فى التأثير على الإنسان المتواجد فى المكان قبل أن يصبح العفن مرئيا. وبعض جراثيم العفن قد يكون خطيراً جداً خاصة عندما يكون متواجداً بكثرة داخل الأبنية مثل المنازل، المدارس أو أماكن العمل.

يوجد ثلاث طرق لإصابة جسم الإنسان بالعفن السام :

There are three ways toxic mold degenerate human body

١- إزالة الماء من جسم الإنسان بواسطة العفن السام :

1- Molds dehydrating human body:

الطريق الأول لإصابة وتحلل جسم الإنسان بالعفن السام هو إزالة الماء (الجفاف) dehydration والذى يرجع الى امتصاص الرطوبة من الجسم مما يؤدى الى قلة الماء فى الجسم ، ومن المعروف أن جسم الإنسان يمكن أن يظل مدة أطول بدون غذاء عنه بدون ماء مما يؤثر فى العمليات الحيوية فى جسم الإنسان.

٢- تلف المخ والجهاز العصبى المركزى بواسطة السموم الفطرية:

2-Mycotoxins damaging the brain and central nervious system:

الطريق الثانى لإصابة وتحلل جسم الإنسان بالعفن السام هو إنتاج السموم الفطرية mycotoxins والتى تستخدمها فطريات العفن لقتل منافستها

الميكروبية. السموم الفطرية ضارة جدا حيث تضر المخ والجهاز العصبى المركزى في الإنسان ، وكان ذلك سبباً لاستعمال بعض السموم الفطرية فى بعض الأسلحة البيولوجية على الأرض مثل T – 2.

٣- تكوين معقدات مناعية تعوق الجهاز الدورى:

3-Immune complexes interrupting circulatory system.

الطريق الثالث لإصابة وتحلل جسم الإنسان بالعفن السام هو إعاقة الجهاز الدورى فى الجسم بواسطة تكوين معقدات مناعية ، حيث فى تفاعل العفن الفطرى الذى يغزو جسم الإنسان فإن النظام المناعى immune system يعمل على تكوين معقدات مناعية أو معقدات بين الجسم المضاد والمادة الغريبة antigen – antibody complexes . فى تلك الأحوال تخلط المادة الغريبة للعفن الفطرى مع الجسم المضاد لها لتكوين المعقدات المناعية والتى تبحث عن وتحطم الميكروبات الغازية microbial invaders. وبزيادة دخول فطريات العفن الى الجسم يزيد تكوين المعقدات المناعية بكثرة والتى تدور فى الجهاز الدورى. وعندما يكون جسم العفن الغريب كبيراً فإن المعقدات المناعية تكون كبيرة والتى فى الغالب تلتصق وتسد الشعيرات الدموية الصغرى. ومن المعروف أن الشعيرات الدموية هى ممرات تشبه الشرائط العصوية تستعمل لأخذ الدم المحتوى أكسجين oxygenated blood من الشرايين الى الخلايا والأنسجة التى تحتاج الى معدل تيار مناسب من هذا الدم لتجديد نفسها، بينما فى حالة إيقاف معدل سريان الدم فإنه يسبب عدم تجديد الأنسجة وموتها.

عندما يتم تراكم فطريات العفن داخل جسم الإنسان بدرجة أسرع من قدرة الجسم على تنظيف نفسه وكذلك عندما يعيش الإنسان فى بيئة تحتوى فطريات العفن عند مستويات عالية فإنها تتراكم داخل الجسم بسرعة وبدرجة كبيرة عند معدل يعتمد على :

- القوة الوصفية (نوع العفن).
- القوة الكمية (مستوى التركيز من العفن).
- فترة تعرض الجسم.
- مستوى التراكم السابق من العفن الفطرى.

الباب الأول

محاولات مبكرة لإثبات وجود السموم الفطرية

Early Trials to Detect Mycotoxins

الباب الأول

محاولات مبكرة لإثبات وجود السموم الفطرية
Early Trials to Detect Mycotoxins

لم يتم توثيق السموم الفطرية حتى عام 1960 ومع ذلك كان يشتبه فيها كما فى حالة الأمراض منذ فترة طويلة، وذلك من فكرة أن الغذاء المصاب بالعفن يمكن أن يسبب أمراضا للإنسان والحيوانات المنزلية وذلك فى الماضى وقبل أن يكون هناك وسائل كافيه للتخزين طويل الأجل للسلع القابلة للتلف، حيث كان يتم استهلاك المواد الغذائية بعد وقت قصير من الحصول عليها. ولكن بعد أن أصبح العالم أكثر تقدما صناعيا وتكنولوجيا وأصبح تخزين الغذاء من القضايا الهامة، ويتم تخزين المواد الغذائية لفترات طويلة من الزمن وإعطاء فرصه أكبر للفطريات لكى تلوث الطعام. فى ايطاليا عام 1900 اعتقد الباحثون أن استهلاك الذرة المتعفن بواسطة الأطفال يؤدى الى ظهور وتفشى الأمراض.

ولقد تم دراسة مدى تفشى مرض تعفن الذرة على نطاق واسع فى جنوب شرق الولايات المتحدة الأمريكية فى أوائل عام 1950 حيث أصيبت مئات من الخنازير البرية التى كانت تتغذى على الذرة المصاب ومات الكثير منها. ولقد تعاون كثير من الأطباء وعلماء الفطريات mycologists لتحديد سبب موت هذه الخنازير، وتم عزل عددا من الفطريات من الذرة المتعفن، وقاموا بتلقيح كل فطر على الذرة الرطب المعقم، وتم اطعامها للخنازير. تبين أن استهلاك الذرة الملقح بالفطر *Aspergillus flavus* يسبب أعراضا خارجية وأضرارا داخليه، فيما يسبب مرض تعفن الذرة moldy corn disease .

على أى الأحوال، كان يحدث تسمم للحيوانات المنزلية الت كانت تتغذى على الذرة المتعفن حتى ولو لم يتم عزل توكسينات toxins، وحدث فى انجلترا قبل عام 1960 موت 100,000(مائة ألف) من

الديوك الرومى وعددا آخر من من الطيور المنزلية مما تسبب فى خسائر ما يقرب من عدة مئات من آلاف الدولارات وذلك قبل عزل والتعرف على السموم الفطرية، وفى البداية كان يعتقد أن هذا المرض يسببه فيروس تم تسميته Turkey – X disease، X هنا تعنى أن سبب المرض غير معروف. ومع العمل البحثى المكثف وجد أن سبب المرض يرجع إلى الأعلاف المنتجة بواسطة شركة Cake Mills Oil والتى كانت معظمها من الفول السودانى كمصدر ممتاز للبروتين وبالتالى هناك سببا أو عاملا جعل وجبة الفول السودانى سامه، وكان أحد الاحتمالات أنه تم إنتاج مادة سامه بواسطة الفطريات النامية داخل وجبة الفول السودانى، ومن خلال عمليات العزل تعرف الباحثون على فطر *Aspergillus flavus*، ولقد تم تلقيح الفطريات المعزولة مرة أخرى فى الطعام ثم تغذية الديوك الرومى عليه، ولقد ماتت الديوك الرومى بعد فترة بسيطة من التغذية مع ظهور الأعراض الخارجية والأضرار الداخلية وهى نفس الأعراض التى ظهرت على الطيور التى ماتت فى وقت سابق فى الحقل.

على أى الأحوال، قام الكيميائيون بعزل والتعرف على السم Toxin من Oil Cake Mills وقاموا بتسمية السم الفطرى المعزول باسم:
aflatoxin(a - from *Aspergillus* , fla - from *flavus*)

ولقد أثبتت إختبارات تغذية الحيوانات على طعام يحتوى aflatoxins أن كل الحيوانات كانت حساسة بدرجات متفاوتة للـ aflatoxins، وأن استهلاك كميات صغيرة جدا منها أحدثت أضرارا فى الأعضاء الداخلية المختلفة وقد تحفز نشوء وتطور السرطان فى الكبد. وكان ذلك مصدر قلق بين علماء التغذية والمهتمين بمشاكل الصحة العامه مثل منظمة الأغذية والعقاقير (FAD) Food and Drug Administration، وكان هناك قلق كبير على المستوى المحلى والدولى من حيث الأهمية الاقتصادية للفول السودانى وأهميته كمصدر ممتاز للبروتين فى الدول النامية (صندوق الأمم المتحدة لرعاية الطفولة، يونيسيف)

(United Nations International Children's Emergency Fund, UNICEF)

ومنظمات أخرى تشير إلى أن نقص البروتين يؤدى الى Kwashiorkor وهو عبارة عن اضطراب نقص البروتين فى الأطفال ويظهر فى المناطق مزدحمة السكان فى أفريقيا وأمريكا الوسطى والجنوبية وجنوب أسيا حيث النظام الغذائى يتكون من الخضروات النشويه وبه نقص فى الأحماض الأمينية التى تشكل البروتينات الحيوية للنمو، واعتمادا على مدى وظهور الأعراض وفترة النقص فى البروتين فإن أعراض الإصابه تشمل: تغييرات فى الجلد، انتفاخ البطن، الإسهال، تخلف فى النمو، فقر الدم، تصبغ الجلد، فقدان الشعر أو تغيير لونه لدى الأطفال بعد وقت قصير من الفطام مما قد يؤدى فى النهاية إلى ضرر وسرطان الكبد نتيجة استهلاك الـ aflatoxins. لقد تم عمل برامج عن طريق مزارعي الفول السودانى والباحثين فى الولايات المتحده عام 1960 للحد من إصابة الفول السودانى ومنتجاته بالـ aflatoxins.

الفطر *Aspergillus flavus* يتكون من 11 نوعا والتى تتواجد فى كثير من الأنواع النباتية بما فى ذلك الحبوب المخزونة، أحد هذه الأنواع الفطر *A. oryzae* المستخدم من من فترة طويلة فى المشرق لتجهيز أنواع مختلفة من المنتجات الغذائية مثل صلصة الصويا والتى بدورها تستخدم فى الولايات المتحدة، هل الـ aflatoxins موجودة فى هذه المنتجات؟ للإجابة على هذا السؤال بدأت الأبحاث سريعة ومستمرة وأصبحت عدد الأبحاث المنشورة كثيرة. ولقد وجد أن الفطر *A.flaves* ينمو مثل باقى الفطريات على الحبوب عند مدى معين من الحراره ومحتوى الرطوبة التى تكون مناسبة لإنتاج الـ aflatoxins.

فى حالة Turkey – X disease فإن الفول السودانى المسئول عن التسمم بالـ aflatoxins كان من أمريكا الشمالية حيث كانت العملية المستخدمة فى حصاد الفول السودانى الجاف هى المسئولة

عن توفير البيئة المناسبة للنمو، مع العلم أن فطر *A.flaves* لا يلوث الحبوب في الحقل ولكن بعد حصادها وتخزينها حيث أنه مثل بعض الفطريات المعروفة بفطريات التخزين تحتاج الى رطوبة منخفضة حتى يمكنها غزو الحبوب، وهذا الفطر شائع على نطاق واسع ويمكن الحصول عليه على نبات متدهور. عموما تختلف كميات الـ aflatoxins الناتجه باختلاف المادة الذى ينمو عليها الفطر، فقد تكون الكتله الفطريه نفسها فى كل ماده ولكن تكون كمية الـ aflatoxins الناتجه على الفول السودانى أكبر كثيرا عنها فى فول الصويا، يلعب كل من الطقس والمناخ دورا كبيرا فى هذا الاتجاه.

الشيء الغريب فى بعض الثقافات انها تشجع على نمو الفطريات على بعض الأطعمه من أجل إعطائها المذاق المطلوب فمثلا قبائل البانتو فى أفريقيا يفضلون المذاق الحامضى للذرة الفاسدة جزئيا وبالتالى يتعمدوا السماح لنمو الفطر على الذرة السليم لهذا السبب ،ومع ذلك قد يكون هذا مجرد مصادفه ولكن لديهم أحداث كثيرة من الاصابه بسرطان الكبد الأولية.

وعلى مدى عدة سنوات تم فحص 100 عينه مختلفة من الفلفل الأسود الكامل أو المسحوق من جميع أنحاء العالم ووجد فى العينات المخففة أن عدد مستعمرات الفطر فى الفلفل الأسود الكامل أو المسحوق تتراوح 5200 مستعمره/جرام من الفلفل الأسود والمعدل العالى كان يصل أكثر من نصف مليون/جرام، وكانت هذه المستعمرات فى معظمها عباره عن *A. flavus, A. ochraceus, A. versicolor* وهذه الأنواع الثلاثة منتجه للأفلاتوكسين.

والمقارنة بين مستوى المستعمرات الفطريه المعزولة من منتجات الطعام المختلفة نجد مثلا القمح عندما يتم طحنه الى دقيق فإنه نادرا ما يحتوى على أكثر من عدة آلاف من مستعمرات الفطر أما الشعير فإنه يحتوى على 10000 مستعمره من نفس نوع الفطريات/جرام مثل الفلفل الأسود، وعلى ذلك يتم رفض الشعير لعمليات التخمير فى

صناعة البيرة. وإذا كانت الحبوب أو الخبز ملوثة مثل الفلفل الأسود سيكون بها رائحة العفن، ورائحة ومذاق غير مقبول، ومقززه لأكلها.

عموما استخدام التوابل الطبيعية مثل الفلفل الأسود أو الأبيض تكون قوية بما يكفى لإخفاء الطعم والرائحة من هذه الفطريات، وذلك ينطبق على باقى التوابل الأخرى. أما فى حالة الأغذية المصنعة فى البيوت أو مصانع القرى فإن الفطر *A. flavus* ينتقل من مرحلة الى الذى يليها وتكون السلالات البرية قادرة على انتاج aflatoxins والتى قد تلوث تلك المراحل، وفى مثل هذه التجمعات يكون من المحتمل أن كل فرد يعانى الى حد كبير من التسمم المزمن بالأفلاتوكسين.

فكره عامة عن بعض الفطريات الهامه فى هذا المجال:

Aspergillus ochraceus يتكون من تسعة أنواع وهى شائعة فى التربة وتؤدى الى تدهور النمو النباتى والبذور والحبوب المخزونة والتى تمر بالفساد الميكروبي، وهذا الفطر يتم عزله بنسبة صغيرة من البذور أو الحبوب الفاسدة ميكروبيا حيث من الواضح ليس منافسا جيدا كما هو الحال مع *A. flavus* . *A. ochraceus* تم عزله من قوالح الذره التى تم تطهيرها سطحيا فى الصناديق المصابة سابقا وذلك فى جامعة مينسوتا، ووجد أيضا أن هذا الفطر يشكل الكائن الأكبر فى عينات كبيره من الفلفل الأسود السليم، ولقد وجدت عينات من المكرونه والاسباجتى مصابه بشده بهذا النوع من الفطر،وفطر *A. ochraceus* ينتج مركب ochratoxin الذى وجد له LD_{50} = 22 mg/kg للفئران rats والكميه الأقل تسبب أضراراً شديدة بالكبد. أما عند اعطاء جرعة فرديه من هذا المركب بمعدل 12.5 mg / kg body weight للفئران الحوامل فى اليوم العاشر من الحمل وجد ان فى حوالى عدد 88 فرداً من الأجنه وجد أن % 72 ماتوا، % 81.8 تم إعادة امتصاصها Resorbed. ولقد أظهرت فراخ البط حساسية بالتساوى لكل من aflatoxin،ochratoxin. ومن الفطريات التى تنتج ochratoxin

أيضا هو الفطر *Penicillium viridicatum* ويوجد فى الذرة المخزون ويعتبر أكثر شيوعا لإنتاج ochratoxin عن الفطر *A. ochraceus*.

فطر ***Asperigillus versicolor*** هو أحد فطريات التخزين، ولقد وجد فى عينة الحبوب المتعفنة جداً بواسطة هذا الفطر جنبا مع جنب مع بعض أنواع *Asperigillus* الأخرى وبعض الفطريات الخيطية والخمائر. وكان الفلفل الأسود الذى تم تدهوره بواسطة الفطريات كان مصابا بشدة بواسطة *A. versicolor*، ووجد أن هذا الفطر ينتج كثير من الجراثيم على الشعير المنبت فى صوب الإنبات مما يؤدى الى نمو الفطر بكمية كبيره، وهل يمكن تخيل العمل فى مثل هذه البيئة الملوثة واستنشاق تلك الجراثيم. وهذه الأنواع فى الظروف المناسبه تنتج المركب السام Sterigmatocystin واسم هذا المركب يرجع الى أن الفطر كان يسمى *Sterigmatocystis* ووجد أن هذا المركب السام يسبب أوراماً فى الرئة والكبد والكلى فى حيوانات المعمل، كما يسبب أمراضاً لعجول الأبقار التى تتغذى على طعام مصاب بشده بالفطر *A. versicolor*، ولقد تم اكتشاف هذا المركب السام فى بذور الفاصوليا المتعفنه.

Aspergillus fumigatus أحد مسببات الأمراض الحيوانية وتحدث الإصابه خلال استنشاق جراثيم الفطر وتؤثر على الرئه، وقد تحدث الاصابه أيضاً فى أجنة الأبقار، وهذا الفطر ينتج ناتج تمثيلى metabolite والذى قد يكون سام toxin أو مضاد حيوى antibiotic وهذا الفطر من الأنواع المحبه للحراره حيث تتواجد فى المادة الأساسية وعلى درجات حراره عاليه تصل حتى 50°C حيث فى العادة تتواجد هذه الأصناف على المواد التى تكون فى مرحلة متقدمه من التحطيم والتى تكون فيها درجة الحراره مرتفعه جدا بواسطة التحطم الميكروبى. وتحت الظروف المناسبة فإن فطر *A. fumigatus* ينتج المركب fumagillin، ويستعمل هذا المركب كمبيد أميبى amoebicide، وكوسيلة لتخلص الجسم من الأميبات الممرضة للإنسان، ويستعمل بنشاط مع نحل العسل. على أى

الأحوال، فإن الجرعة الصحيحة من هذا المركب تكون حرجة للغاية (دقيقة جدا) حيث أن الأكثر قليلا عن المطلوب للتخلص من الأميبات قد يؤدى الى التخلص من المريض أيضاً.

Fusarium species تنتشر أنواع الفيوزاريم فى الطبيعة وتدمر النموات الخضريه وتتطفل على كل أجزاء النباتات وتسبب أمراضاً عديدة للنباتات ذات الأهمية الاقتصادية، ومنها أنواعاً تنتج سموم فطريه mycotoxins مثل trichothecenes and zearalenone.

تأثير المركب T-2 , trichothecene كان مصحوباً بانتشار مرض alimentary toxic aleukia (ATA):
المصطلح alimentary toxic يعنى وجود السم الفطرى المستهلك فى الغذاء، aleukia ترجع الى انخفاض عدد كرات الدم البيضاء فى الشخص المتأثر، وظهرت أعراضا أخرى مثل نزيف من الأنف والحنجرة، ونزيف متكرر من تحت الجلد. الطعام المصاب كان نبات يعطى حبوبا للطعام millet ويشكل جزءً كبيراً من وجبات الناس فى تلك المنطقة من الاتحاد السوفيتى أثناء الحرب العالمية الثانية حيث كان غير مسموحاً أن يترك الـ millet قائما فى الحقول طول الشتاء بسبب الطقس السيء فى المطر الذى يمنع حصاده فى الوقت المناسب، وخلال أواخر الشتاء وأوائل الربيع فإن الـ millet يصبح مصابا بالفطريات ومنها فطر *F.tricinctum* وعند استهلاكه فان آلاف من الناس تأثر بحالات ATA ومات الكثير منهم. ولقد ثبت أن انتشار ATA كان بسبب استهلاك السم المتواجد فى صوب الـ millet الذى كان ملوثا بالفطر*F.tricinctum* وتم إعطاء السم الفطرى الاسم الشائع T-2 الذى تم تقسيمه كأحد مركبات trichothecenes، وبتغذية الفئران عن طريق الفم أعطت LD50 = 3.8 mg/kg وهى سامه بقدر كاف.

فطر ***Fusarium graminearum*** من المعروف أن الذرة يستعمل فى تجهيز الطعام لمعظم الحيوانات المنزلية وهو مثل باقى

الحبوب معرض للإصابه بالفطريات قبل وبعد الحصاد، والاصابه تؤثر على القيمة الغذائية للذرة كعلف أو غذاء. إذا كان الطقس ممطراً وتم نضج الذرة فى نهاية الصيف وبداية الشتاء فإن فطر *F. graminearum* يصيب حوالى ½ (نصف) حبوب الكيزان، ومهما كانت كمية كيزان الذرة المصابة فإن كل الحبوب فى نفس الجزء تصبح مصابه بشده وتفسد وتتعفن بواسطة الفطر مما يجعلها غير جاذبة للحيوانات المنزلية وترفض أكله وهذه الظاهرة تسمى refused factor وبالتالى فإن الحيوانات تفقد وزنها. والذرة المصاب بهذه الطريقة يحتوى مادة تسبب القيء ناتجة بواسطة هذا الفطر، وعندما يتغذى عليه الحيوان فانه يعانى من تأثير القيء لفترة طويله والذى معها يرفض أكل زيادة من الذرة، والمادة السامة الموجودة هى deoxynivalenol (DON) والمعروفة أيضا باسم vomitoxin.

استعمال السموم الفطرية فى الإرهاب البيولوجى Bioterrorism:

أولا : إستعمال Trichothecenes كسلاح بيولوجى :

خلال منتصف عام 1970 عندما قامت فيتنام بغزو لاوس، كان هناك قصصا عن المطر الأصفر Yellow Rain فى المناطق التى فيها تم قتل قرى بأكملها، وقال أحد شهود العيان وعائلته أنهم شاهدوا قصف قريتهم بواسطة الفيتناميين عن طريق طائرات الميج، بإستخدام مسحوق أصفر وكان ينزل مثل المطر الأصفر، وبالعودة الى القرية وجد أن معظم الناس وكل الحيوانات ماتوا، وكانت الأجسام تنزف من الأنف والأذن، ووجدت تقرحات بلون أصفر على الجلد. ووجد عدد قليل جداً من الناس على قيد الحياة ولكنهم كانوا يرتعدون مثل السمك عند إخراجه من الماء، ثم مات هؤلاء الناس فى النهاية. أما الشاهد وعائلته فقد ابتعدوا بعيدا عن عن القرية ثم شعروا بضيق فى التنفس وآلام مرضيه فى المعدة. اعتقدت الولايات المتحدة الأمريكيه أن الإتحاد السوفيتى (وقتها) كان متورطا فيما حدث وأرسلت فرقا طبية للبحث والتحقيق، وحتى عام 1980 توصل فريق

من قسم الدفاع الكيميائي الى أن الأعراض الناتجة على ضحايا التفجير كانت مماثلة للأعراض الناتجة من trichothecenes mycotoxcosis وقد تم أخذ عينات من الضحايا والنموات الخضرية فى المنطقة ووجد أنها تحتوى trichothecenes. وبهذه المعلومات فإن الرئيس الأمريكي رونالد ريجان اتهم الاتحاد السوفيتى بانتهاك اتفاقية جينيف و اتفاقية الأسلحة البيبولوجيه، وبالطبع كان هناك نفيا من جانب الاتحاد السوفيتى، ومع ذلك استمرت الاتهامات لمدة 3 سنوات. وقد تم جمع عينات متتالية أظهرت تواجد trichothecenes بنسب مختلفة من عينة لأخرى، بالإضافه الى ذلك تم تحليل 100 عينة بواسطة جيش الولايات المتحدة ولم يوجد دليل على تواجد trichothecenes، وفى النهايه اقتنع العلماء أن قصة المطر الأصفر كانت خدعة ونفذها الجيش لزيادة التمويل للصناعات الكيميائية الدفاعية والأسلحة البيولوجية. عموما مشكلة المطر الأصفر مازالت لم تحل بشكل مقنع.

من ناحية أخرى الـ trichothecenes mycotoxins يمكن توزيعها فى صورة مساحيق dusts، بالتنقيط droplets، ايروسولات aerosols، دخان من الطائرات أو الصواريخ أو الألغام والمدافع والرشاشات، وبسبب خواصها المؤثرة ضد الأشخاص وسهولة انتاجها على نطاق واسع، ووضوح توزيعها بالنظم الهوائية المختلفة فإن trichothecenes mycotoxins خاصة T – 2 toxin لها جهداً ممتازاً لإستعمالها للتسليح. وجد أن توزيعها بجرعات منخفضة فإنها تسبب مشاكل للجلد والعين والجهاز الهضمى، فمثلا كميات بالـ nanogram (خاصة T – 2 toxin) تسبب التهابات جلدية خطيرة مثل erythematic, edema, necrosis. ولقد لوحظ الجلد المصاب بالبثرات skin vesicant فى عدد كثير من الناس التى تعرضت لمهاجمة المطر الأصفر، وكانت T- 2 toxin أكثر قوة بحوالى 400 مرة عن الخردل (50ng vs. 20µg) فى إحداث أضرار جلدية. كما وجد أن أقل ميكروجرامات من الـ trichothecenes mycotoxins تسبب التهابات خطيرة فى العين وتلف القرنية وضعف الإبصار، ولوحظ أن

$\frac{1}{10} - \frac{1}{5}$ من الجرعات المميتة منه يسبب قيء شديد مع إسهال. التأثير المميت لـ T – 2 toxin عن طريق التعرض له في صورة ايروسول يصل الى50-10 مرة أكبر منه فى حالة حقنه تحت الجلد. أما فى الجرعات الأكبر فإنtrichothecenes mycotoxins فى صورة ايروسولات قد تؤدى الى موت الإنسان فى خلال عدة دقائق الى ساعة. ومن هنا يمكن استعمال trichothecenes كجوهر سلاح كيميائى فى الحروب.

ثانياً : إستعمال Aflatoxins كسلاح بيولوجى :

عموما يمكن استخدام السموم الفطريه mycotoxins فى الحرب الكيماوية، ولقد قام العلماء فى العراق بتطوير الأفلاتوكسين كجزء من برنامج السلاح البيولوجى لديهم خلال عام 1980 حيث تم تنمية السلالات السامة *A. flavus, A. parasiticus* واستخلصت الأفلاتوكسين منها لانتاج أكثر من 2300 لتر من المادة السامة المركزه، وتستعمل معظم الأفلاتوكسين لتعبئة قذائف الصواريخ والمتبقى يحفظ كمخزون استراتيجى. واختيار الأفلاتوكسين للحرب الكيماويه هو اختيار جيد بسبب زيادة ظهور سرطان الكبد كضربة قاضية فى المعارك. واستعمال الحرب الكيماوية والبيولوجية يثير الاستجابة الانفعالية لما يبحث عنه الإرهابيون. علاوة على ذلك، فإن استعماله ضد الأقليات العنصرية مثل الأكراد يكون له تأثير مدمر نفسياً وفيزيائياً على المدى الطويل.

الباب الثانى

تعريف السموم الفطرية
Mycotoxins Identification

الباب الثـــانى

تعريف السموم الفطريه
Mycotoxins Identification

Mycotoxin مشتقه من اليونانية mykes, mukos التى تعنى fungus (الفطر)، اللاتينية toxicum وتعنى السم أى السم الفطرى. والـ mycotoxin هى نواتج تمثيلية ثانوية (ميتابوليت) تنتج بواسطة كائنات حيه من مملكة الفطريات معروفة أساسا بالعفن molds والقادرة على التسبب بالمرض فى الإنسان والحيوانات الأخرى. ولقد وجد أن بعض السموم الفطرية أو مشتقاتها تستعمل كمضادات حيوية، مشجعات للنمو، أنواع أخرى من الأدوية والمخدرات، ومازال بعضها يستعمل كعوامل للحرب الكيميائية.

معظم الفطريات هوائيه (تستعمل الأكسجين) وتتواجد فى كل مكان تقريباً فى كميات صغيرة للغاية نظراً لحجم جراثيمها الصغير جداً، وعندما تتوفر الظروف الملائمة من الرطوبة ودرجة الحرارة فان الفطريات تتكاثر فى مستعمرات ويتم استهلاك المادة العضوية ويصبح مستوى السموم الفطريه mycotoxins عالياً والتى تضعف العائل المستقبل لها.

إنتاج السموم الفطرية يعتمد على الظروف البيئية المحيطة، وتختلف السموم بدرجة كبيرة فى خطورتها معتمدة على الكائن المصاب وحساسيته، الميتابولزم وميكانيكية الدفاع. السموم الفطرية يمكن أن تظهر فى السلسلة الغذائية كنتيجة للعدوى الفطرية للمحاصيل إما عن طريق أكلها مباشرة بواسطة الإنسان أو تستخدم كعلف للماشية. السموم الفطرية تقاوم بدرجة كبيرة التحلل أو تحطمها فى عمليات الهضم وعلى ذلك تظل فى السلسلة الغذائية فى اللحوم ومنتجات الألبان، وكذلك فإن درجة حرارة المعاملات مثل الطهى والتجميد لا تحطم السموم الفطرية. كل السموم الفطرية عبارة عن

نواتج طبيعيه منخفضة الوزن الجزيئى فى صورة ميتابوليت (نواتج تمثيلية) ثانوية تنتج بواسطة الفطريات الخيطية filament fungi وهذه النواتج تشكل مجموعة غير متجانسة كيميائيا أو توكسيكولوجيا والتى قد تسبب أمراضا وموتا فى البشرية والفقاريات الأخرى، وكثير من السموم الفطرية قد تحدث سمية فى وقت واحد لكل اللافقاريات، النباتات والكائنات الأخرى.

نمو الفطريات على الحيوانات العائل تنتج أمراضا مجتمعة تسمى mycoses بينما تعرض النظم الغذائية، والتنفسية، والجلد الى ميتابوليت الفطر السامة تنتج أمراضاً مجتمعة تسمى mycotoxicoses والـ mycoses تتراوح من مجرد إزعاج الى تهديد الحياة العامه، والفطريات المسببة الـ mycoses تنقسم الى صنفين كالآتى :

١- مسببات أمراض أوليه primary pathogens مثل :
Coccidioides immitus and *Histoplassma capsulatum*

٢- مسببات أمراض انتهازيه Opportunistic pathogens مثل :
Aspergillus fumigates and *Candida albicans*

مسببات الأمراض الأولية تؤثر على الأفراد الأصحاء ذوى المناعة الطبيعية، بينما مسببات الأمراض الانتهازية تنتج أمراضاً عن طريق الاستفادة من ضعف العائل أو المناعة المتوسطة. غالبية الـ mycoses التى تحدث للإنسان تكون بواسطة الفطريات الانتهازية. ومع دراسات طبية كثيرة وجد أن المدخل الرئيسى لمعظم الـ mycoses هو الجهاز الرئوى أو نتيجة النمو غير العادى للأنواع المعايشة التى تقيم عادة على جلد الإنسان.
أما الـ mycotoxicoses فهى أمراضا حيوانيه تسببها الـ mycotoxins كأمثله للتسمم بالوسائل الطبيعية وبالتالى تكون مشابهه للأمراض التى يسببها التعرض لمبيدات الآفات أو متبقيات

المعادن الثقيلة، وتعتمد أعراض الـ mycotoxicoses على نوع الـ mycotoxins، مقدار وفترة التعرض، عمر وصحة وجنس الفرد المعرض لها، والعديد من العوامل مثل الوراثة، الحالة الغذائية أو التداخل مع مواد سامه أخرى. ويمكن زيادة شدة التسمم بالسموم الفطرية عن طريق نقص الفيتامينات، نقص السعرات الحرارية، إدمان الكحوليات وفى وجود أمراض معديه. والـ mycotoxicoses يمكن أن تزيد التعرض للأمراض الجرثومية وتتداخل مع غيرها من السموم الأخرى، وعلى ذلك فإن الأمراض الفطرية تسبب مشكلة عالمية خطيرة.

الـ mycoses الناتجة بواسطة مسببات الأمراض الانتهازية تحدث فى العالم المتقدم الى حد كبير والتى تحدث عادة فى المرضى ذو النظام المناعى المعرض للخطر بواسطة العلاج الطبى المتقدم، بينما الـ mycotoxicoses هى الأكثر شيوعا فى الدول المتخلفة وتنتج من تناول الأطعمة الملوثة، ومن تلامس الجلد مع العفن المنتشر على المواد المصابة واستنشاق الجراثيم المنتجة للسموم. ويمكن تصنيف الـ mycotoxicoses على أنها acute or chronic ومن الضرورى وجود علاقة بين الجرعة والاستجابة بين السم الفطرى والمرض.

سموم فطر عيش الغراب mushroom poisons:

. على الرغم أن فطر عيش الغراب البرى wild mushrooms يحتوى على مجموعه متنوعة من السموم الفطرية تسمى mushroom poisons وهى بالتأكيد ميتابوليت فطريه التى يمكن أن تسبب موتاً للإنسان وحيوانات أخرى ويمكن استبعادها من مناقشات علم السموم الفطريه mycotoxicology.

فطريات العفن molds (الفطريات الصغيرة micro-fungi) تنتج mycotoxins بينما الـ mushrooms والفطريات الكبيرة تنتج mushroom poisons. التعرض للسموم الفطريه mycotoxins

هو دائما بالمصادفة بينما التعرف الخاطىء على الـ mushroom يسبب تسمم عيش الغراب mushroom poisoning نتيجة جمعه وطبخه نتيجة الخطأ فى تعريفه كنوع جيد مما قد يؤدى الى الإصابه بالهلوسة.

ومن المعروف أن *Amanta phalloide* التى تنتج cyclopeptide السامة والمسئولة عن حوالى 90% من الوفيات بسبب عيش الغراب. ومن ناحية أخرى توجد مجاميع سموم فطرية أخرى فى الـ mushroom تشمل:

Orellanine, monomethylhydrazine, disulfiram–like, hallucinogenic indoles, muscarinic, isoxazole, and gastrointestinal (GI) – specific irritants.

تصنيف السموم الفطرية:

** عموما السموم الفطرية تشكل تحديا لتصنيفها وذلك بسبب تنوع تركيبها الكيميائي وأصول التخليق الحيوى، تأثيراتها البيولوجية المتعددة، إنتاجها بواسطة عدد واسع من الفطريات المختلفة. ومن هنا فإن التقسيم يعكس ثقافة القائم بالتقسيم:

١- علماء الطب يقسمونها طبقا للعضو المتأثر أو نوع المرض الذى تسببه الى :
Hepatoxins, nephrotoxins, neurotoxins, immunotoxins, ...etc.

٢- علماء الخلية وضعوها فى مجاميع عامة مثل:
Teratogens, mutagens, carcinogens, and allergens

٣- علماء الكيمياء العضويه حاولوا تقسيمها طبقا لتركيبها الكيميائى مثل : لاكتونات، كيومارين، ....

٤- علماء الكيمياء الحيوية كان التقسيم طبقا لأصل تخليق البروتين مثل:مشتقات الأحماض الأمينيه ، polyketides و..........

٥- تقسيم علماء الفطريات طبقا لنوع الفطريات التى تنتجها مثل :
Aspergillus toxins, *Penicillium* toxins, ……

عموما أى من هذه التصنيفات غير مرضى تماما، حيث أن نفس المركب قد يوضع فى مجاميع مختلفة، فمثلا أفلاتوكسين aflatoxin قد يكون:
Hepatoxic, mutagenic, carcinogenic, difuran–containing, polyketide–derived *Aspergillus* toxins.

مركب zearalenone هو *Fusarium* metabolite له نشاط قوى مع أستروجين، وبالإضافه انها سموم فطريه فانه يتم وصفها أيضا بأنها :
Phytoestrogen, mycoestrogen, and growth promotion

فى الوقت الحالى يوجد أكثر من 100 دوله عندها نظم ولوائح بشأن السموم الفطرية فى صناعة الأعلاف وهناك عدد 13 من السموم الفطرية أو المجاميع موضع الاهتمام. عملية تنظيم تقييم السموم الفطرية تشمل مجموعة واسعة من التجارب فى المعامل مثل طرق الاستخلاص والتنظيف والعزل، ومعظم الطرق تعتمد على HPLC ومن خلال طرق معتمدة دوليا. وهذا يعنى أن أى لوائح أو نظم تتعلق بهذه السموم ستكون مع أى بلد آخر التى معها اتفاقات تجاريه. وتم وضع كثير من المعايير لطرق تحليل السموم الفطرية بواسطة اللجنة الأوربية للمعايير European Committee Standardization (ECS). على أى الأحوال فإن تقييم المخاطر علميا سوف يتأثر بالثقافة والسياسة والتى بدورها سوف تؤثر على الأنظمة التجارية للسموم الفطرية.

تم دراسة السموم الفطرية فى المواد الغذائية على نطاق واسع فى جميع أنحاء العالم خلال القرن العشرين، ففى أوربا قامت مجموعة من التوجيهات الأوربية واللجان المنظمة بوضع وتحديد المستويات القانونية لمدى السموم الفطرية المسموح بها فى الغذاء وعلف الحيوان. أما هيئة الأغذية والدواء الأمريكية فقد نظمت وفرضت قيودا على تركيزات السموم الفطرية فى صناعة المواد الغذائية والأعلاف منذ عام 1985، ومن خلال البرامج المختلفة فإن هيئة الأغذية والدواء الأمريكية تراقب هذه الصناعات لضمان أن السموم الفطرية تتواجد على المستوى العملى، وذلك يشمل المنتجات الغذائية مثل الفول السودانى ومنتجاته، البندق، الذرة ومنتجاته، بذور القطن، والحليب.

بشكل عام فإن التعرض للسموم الفطرية محتمل حدوثه فى أى جزء من العالم يكون فيها طرق غير سليمة لتداول وتخزين المواد الغذائية مع وجود أنظمة غير فعاله لحماية السكان، فمثلا بعض السكان تعيش فى مبانى معرضة لوجود مستويات عالية من العفن.

يجب أن يوضع فى الاعتبار أن طرق المكافحة أو السيطرة على السموم الفطرية تكون وقائية بدرجة كبيره والتى تشمل الممارسات الزراعية الجيدة وتجفيف المحاصيل بدرجة كافية بعد الحصاد، كذلك البحث عن طرق لمنع تلوث المحاصيل قبل الحصاد ومنها: زيادة مقاومة العائل خلال تربية النبات وخلال زيادة الجينات المضادة للفطريات عن طريق الهندسة الوراثية، استعمال وسائل المكافحة الحيوية، استهداف الجينات فى تطوير السموم الفطرية. وعلى الرغم من ذلك فإن أى من تلك الأساليب والطرق لم تؤدى الى حل المشكلة بسبب أن السموم الفطرية هى ملوثات طبيعية للطعام، وتكوينها فى الغالب لا يمكن تجنبه، ولكن تبذل جهوداً كبيرة تشمل فصل المواد الملوثة بالسموم الفطرية من الإمدادات الغذائية خلال عمليات الفحص وبرامج التنظيم الحكومية.

الباب الثالث

السموم الفطرية الرئيسية

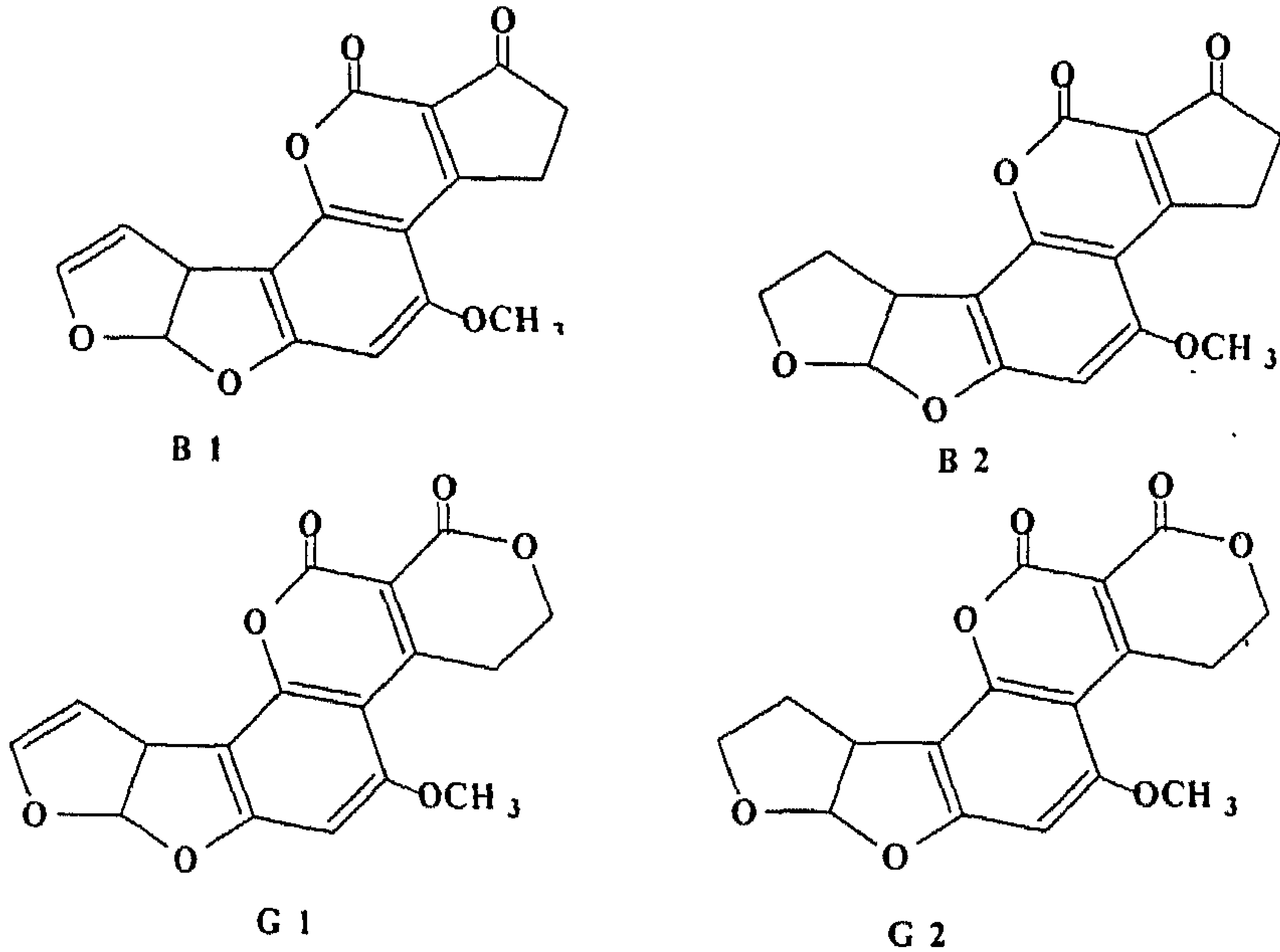
Major Mycotoxins

الباب الثالث

السموم الفطرية الرئيسية
Major Mycotoxins

١ ـ افلاتوكسين : Aflatoxins

تم فصل والتعرف على أفلاتوكسين بعد موت أكثر من مائة ألف من دجاج تركى بواسطة مرض turkey X، وتم تتبعه بواسطة استهلاك وجبات فول سودانى ملوثة بالعفن، واكتشف أربعة أنواع أفلاتوكسين رئيسيه هى: B1, B2, G1, G2 معتمدة على ضوئها الفلورسنتى تحت ضوء الأشعة فوق البنفسجية (أزرق أو أخضر) والتنقل الكروماتوجرافى النسبى خلال TLC.



شكل (١)الشكل التركيبى للأفلاتوكسين B1 , B2 , G1 , G2

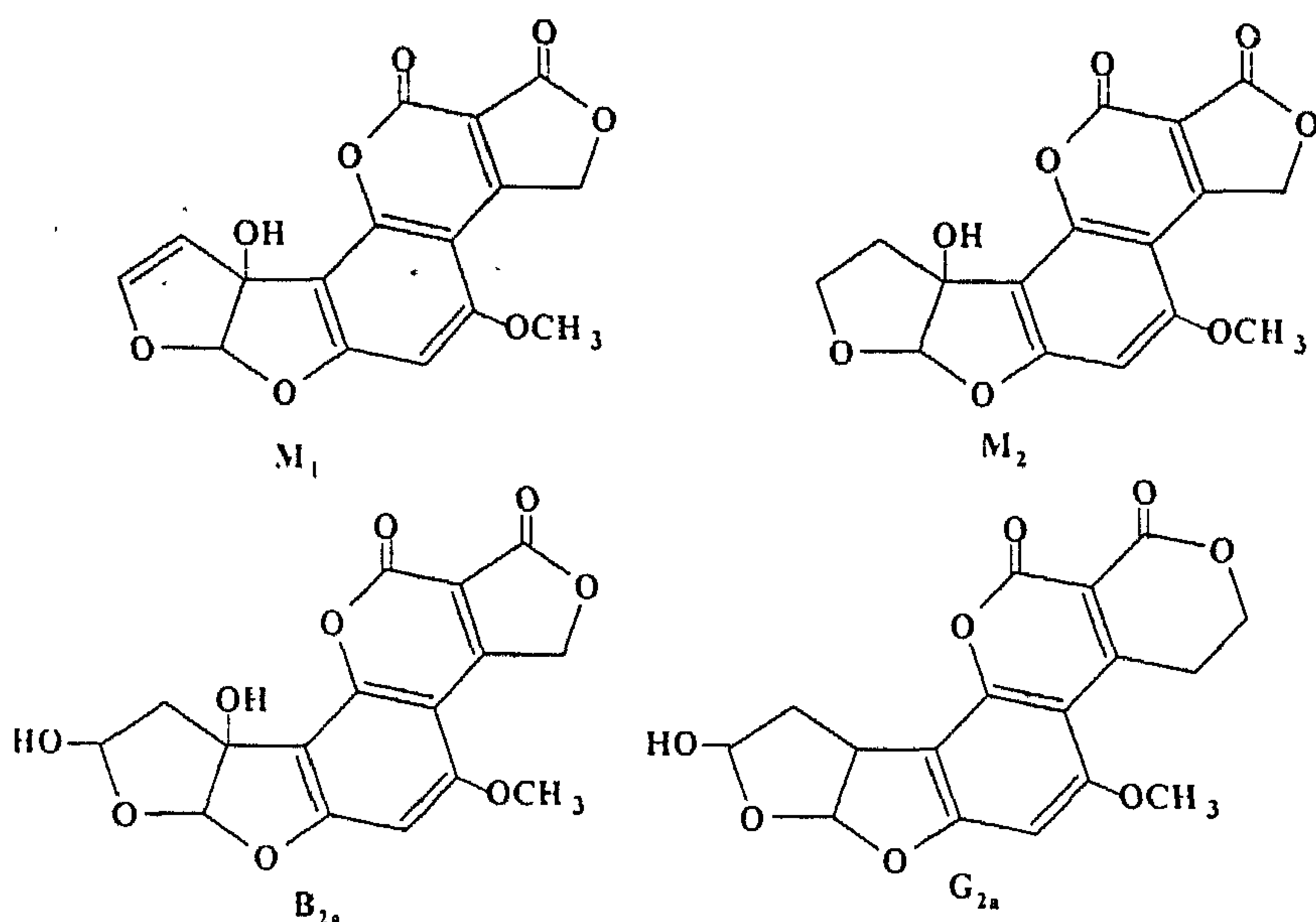
أفلاتوكسين عبارة عن difuranocoumarin derivatives تنتج بواسطة polyketide pathway من سلالات كثيرة من

A. flavus وفطر *Aspergillus flavus* and *A. parasitic.* هو المسئول عن التلوث بدرجة كبيرة فى المجال الزراعى . وتعتبر كل من الفطريات التالية :

A.bombycis, A. ochraceoroseus , A. nomius , and *A. pseudotamari* من الفطريات المنتجه أفلاتوكسين أيضا ولكنها أقل تواجداً بصورة متكررة . ويوجد إختلافات وصفيه وكميه فى قدرات التسمم بواسطة سلالات أخرى داخل كل الأنواع المنتجة الأفلاتوكسين.

أفلاتوكسين B1 على سبيل المثال هو مادة طبيعيه مسرطنه قويه، وقد تكون الأكثر انتاجا بواسطة سلالات التسمم الجينيه toxigenec strains. ولقد وجد أنواع أخرى من أفلاتوكسين هى : P1 , Q1 , B2a , G2a كمنتجات حيوية فى الثدييات.

التلوث بالأفلاتوكسين يكون مرتبطا بزيادة الموت فى حيوانات الحقل، وتقلل بدرجة كبيرة من قيمة الحبوب كغذاء للحيوانات وكمواد للتصدير . منتجات اللبن قد تكون مصدراً غير مباشر للأفلاتوكسين، حيث عندما تستهلك الأبقار علفاً ملوثاً بالأفلاتوكسين فإنها تحول aflatoxin B1 حيويا الى صورة عليها هيدروكسيل (hydroxylated form) وتسمى aflatoxin M1. أفلاتوكسين تكون مصحوبة بتأثير سام وسرطانى فى الإنسان والحيوانات، والأمراض التى تنتج بواسطة أفلاتوكسين تسمى alfatoxicosis، ومنها الـ acute alfatoxicosis التى تؤدى الى الموت، أما chronic alfatoxicosis تؤدى الى السرطان، وإيقاف المناعة، وخلل لبعض العمليات الفسيولوجية. يعتبر الكبد من الأهداف الأولية المستهدفة، وقد حدث تلف فى كبد الدجاج والسمك والقوارض عند تغذيتها على aflatoxin B1. عموما توجد اختلافات جوهرية فى حساسية الأنواع، ويتأثر حجم الاستجابة بالعمر، الجنس، الوزن، النظام الغذائى ومدة التعرض للإصابه وكذلك وجود سموم فطرية أخرى.



شكل (٢)الشكل التركيبى للأفلاتوكسين M_1 , M_2 , B_2a , G_2a

AFB_1 النقى مادة بلورية ذات لون أبيض باهت الى الأصفر، عديم الرائحة، يذوب فى الميثانول، الكلوروفورم، الأسيتون، الأسيتونيتريل.

فطر *Aspergillus flavus* ينتج كل من AFB_1, AFB بينما فطر *A. parasitic* ينتج AFB_2 ,AFB1 ,AFG_1, AFG_2. يمكن فصل أربعة مشتقات أخرى بكميات صغيرة من بيئات هذين الفطرين هما AFM_1, M_2, B_2a, G_2A. عموما الأفلاتوكسين تتبع مجموعة إلـ difuranocomarins والتى تقسم الى قسمين طبقا للتركيب الكيميائى :

1) Difurocoumarocyclopentanone series (AFB1 AFB2, AFB2a ,AFM1 ,AFM2 ,AFM2a and aflatoxicol.
2) Difurocoumarocyclopentenone series (AFG1, AFG2, AFG2a, AFGM1, AFGM2 and AFGM2a).

جدول (١) الخواص الطبيعية للأفلاتوكسين:

Aflatoxin	Molecular formula	Molecular weight	Melting point
B_1	$C_{17}H_{12}O_6$	312	268-269
B_2	$C_{17}H_{14}O_6$	314	286-289
G_1	$C_{17}H_{12}O_7$	328	244-246
G_2	$C_{17}H_{14}O_7$	330	237-240
M_1	$C_{17}H_{12}O_7$	328	299
M_2	$C_{17}H_{14}O_7$	330	293
B_{2A}	$C_{17}H_{14}O_7$	330	240
G_{2A}	$C_{17}H_{14}O_8$	346	190

- إنزيمات cytochrome P450 تعمل على تحويل أفلاتوكسين الى الصورة الفعالة epoxide -8,9 والتى تكون قادرة على الارتباط بكل من البروتين DNA. وكيميائياً ترتبط الـ aflatoxin epoxide مع الموضع N^7 فى الجوانين. وكذلك فإن aflatoxin B_1–DNA قد يؤدى الى تحويل GC (Guanine – Cytosine) الى (Thymine - Adenine)TA

- انزيم glutathione S–transferase الفعال الموجود فى العصارة الخلوية والميكروسومات يساعد على ارتباط أفلاتوكسين مع الجلوتاثيون المختزل .

- التغييرات فى مستوى نظام انزيم جلوتاثيون ترانسفيريز glutathione S– transferase وكذلك فى نظام cytochrome P450 يساهم فى الاختلافات الملحوظة فى حساسية أفلاتوكسين بين الأنواع، وبسبب هذه الاختلافات فى حيوانات التجارب، فإنه من الصعب إستقراء أو توقع الآثار المحتمله للأفلاتوكسين على البشر. ولقد لوحظ تفشى التهاب الكبد

عام 1974 فى الهند والذى توفى على أثره 100 شخص والذى قد يرجع الى استهلاك حبوب الذرة التى كانت ملوثة بشدة بالأفلاتوكسين، وتم حساب الجرعة المميتة الحادة للبالغين بحوالى:

10 to 20 mg aflatoxin /kg body weight

- تم افتراض أن مرض نقص البروتين وهو مرض سوء التغذية القوى قد يكون صورة من تسمم الأطفال بالأفلاتوكسين.

- البيانات عن أفلاتوكسين كمسببات سرطانية للإنسان تكون أكثر انضباطا عن البيانات المرتبطة بسميتها الحادة للإنسان، حيث أن التعرض للأفلاتوكسين يعتبر عاملا هاما لأخطار تطور سرطان الكبد الأولية وخاصة عند الأفراد الذين تعرضوا بالفعل لالتهاب الكبد الوبائى hepatitis B، ولقد ربطت عديد من الدراسات أن حدوث سرطان الكبد يرجع الى استهلاك قدر من أفلاتوكسين فى الوجبات الغذائيه. تختلف حالات الإصابه بسرطان الكبد من بلد الى بلد آخر، وكان أكثر أنواع السرطان انتشاراً فى الصين، الفلبين، تايلاند وعديد من بلاد أفريقيا. ويرى البعض بالتطعيم ضد التهاب الكبد الوبائى B بوصفها أثر واقعية وفعالية من حيث التكلفه لخفض معدل الإصابه بسرطان الكبد الوبائى B عن إزالة أفلاتوكسين من الغذاء.

- تحليل السموم الفطرية خلال عمليات الرصد الحيوى أظهرت عن وجود نواتج تمثيل metabolites للأفلاتوكسين فى الدم، اللبن، البول، وعلاوة على ذلك أمكن رصد إفراز DNA and blood protein adducts.

- الـ aflatoxin B – N^7 – guanine adduct يمثل العلامة البيولوجية biomarker فى البول نتيجة التعرض للأفلاتوكسين ولكنه يعكس فقط التعرض للإصابه الحديثة.

- وتوجد دراسات كثيرة تبين أن الفاعلية العالية للأثر المسرطن لها علاقة مع مدى تكوين DNA adduct الكلى فى الجسم الحى.

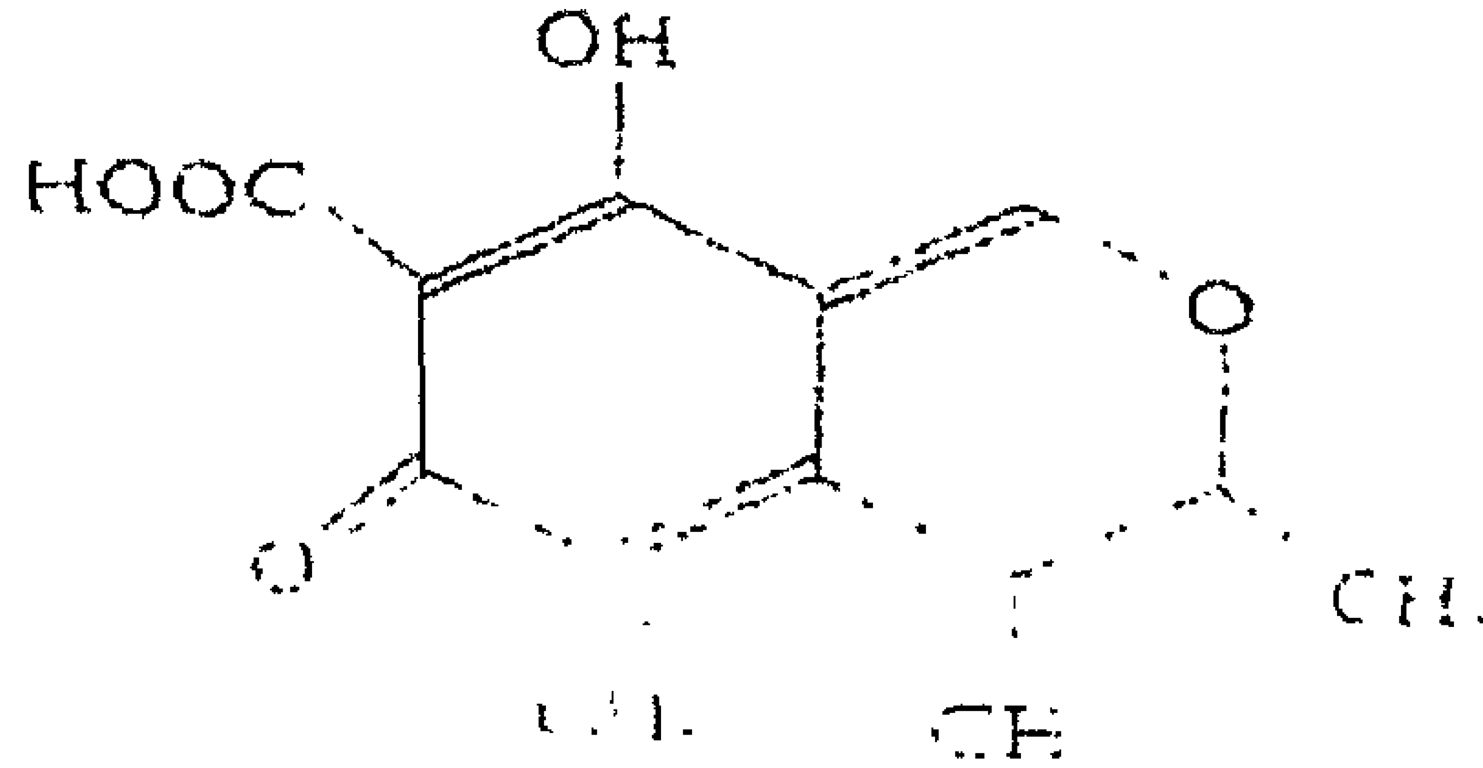
- عدم تنشيط جين P_{53} المانع للورم قد يكون يكون له أهمية فى تطور سرطان الكبد الأوليه حيث وجد أن aflatoxin epoxide النشطة ترتبط مع الموضع N^7 فى الجوانين، وعلاوة على ذلك فإن aflatoxin B_1 – DNA adduct يؤدى الى تحول GC to TA.

- توجد أدلة كثيرة لارتباط أفلاتوكسين مع نيوبلازما فى الأنسجة خارج الكبد وخصوصاً الرئتين، حيث فى دراسات مبكرة فى هولندا على العاملين فى تجهيز الفول السودانى والذين يتعرضون إلى غبار ملوث بأفلاتوكسين **B1** ظهرت علاقة بين كل من سرطان الجهاز التنفسى والسرطان الكلى فى المجموعة المعرضة.

- عموما فى البلاد المتقدمة ومع توافر كميات كافية من الطعام، يوجد نظم لرصد مستويات الأفلاتوكسين فى الطعام لحماية السكان من أخذ وابتلاع كميات كبيرة من الأفلاتوكسين.

أما فى البلاد التى يواجه فيها السكان في مجاعة أو نقصا فى الطعام أو عدم وجود النظم المحددة ، فقط تناول روتينى للأفلاتوكسين من خلال الأطعمة الملوثة، وجد أن معدلات حدوث سرطان الكبد فى الدول النامية من 2 الى 10 مرات أكبر من الدول المتقدمة.

٢- سيترينين : Citrinin



3,4–dihydro–8–hydroxyl–3,4,5–trimethyl–6–oxo –2–benzopyran–7–carboxylic acid, lemon–yellow needles from alcohol, dec. 175° mp., insoluble in water, soluble in alcohol, dioxin, dilute alkali.

أحد السموم الفطرية وتم عزله فى أول الأمر من الفطر *Penicillium citrinum* قبل الحرب العالمية الثانية ، وكذلك تم التعرف عليه فى أكثر من اثنى عشرة نوعا من *Penicillium*، وبعض أنواع أخرى . من *Aspergillus* مثل *A. terreus, A. niveus* . وكذلك بعض السلالات المستعمله لانتاج بعض المواد الغذائية للإنسان مثل *Penicillium camemberti* المستخدمة فى إنتاج الجبنه، وسلالة *Aspergillus oryzae* المستخدمة فى إنتاج صلصة الصويا. وحديثا تم فصل Citrinin من *Monascus ruber & M. purpureus* وهى أنواع تستعمل لإنتاج صبغات حمراء .

الـ Citrinin كان مصاحبا لمرض الأرز الأصفر yellow rice فى اليابان، وله تأثير سام على الكليه nephrotoxins فى جميع أنواع الحيوانات المختبره، وتختلف سميته الحادة تبعاً للنوع المختبر، فمثلا LD_{50} للبط= 57 mg / kg، وللدجاج = 95 mg / kg، وللأرانب كانت= 134 mg / kg. يعمل الـ Citrinin منشطا بـ ochratoxin A لمنع تخليق RNA فى كلى الفئران. وتم تسجيل

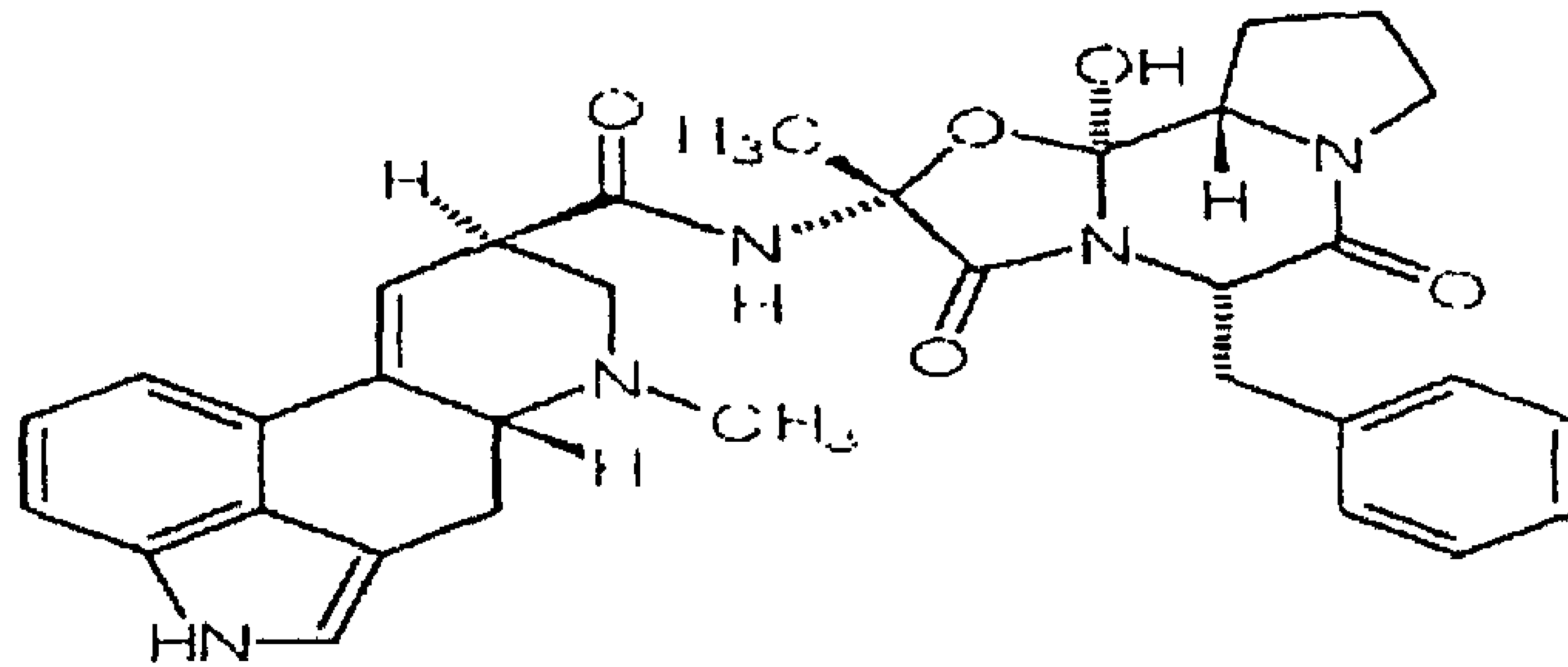
أن القمح والشوفان والشعير والذرة والأرز تحتوى Citrinin الذى وجد أيضا فى الخضراوات الملوثة بواسطة*Monascus pigments* ووجد كذلك فى بعض اللحوم المصنعة من ايطاليا.

٣- Ergot Alkaloids

من الميتابوليت الفطرية المؤثرة، وتنقسم الى:
indole alkaloids مشتقة من نظام tetracyclic ergoline ring-

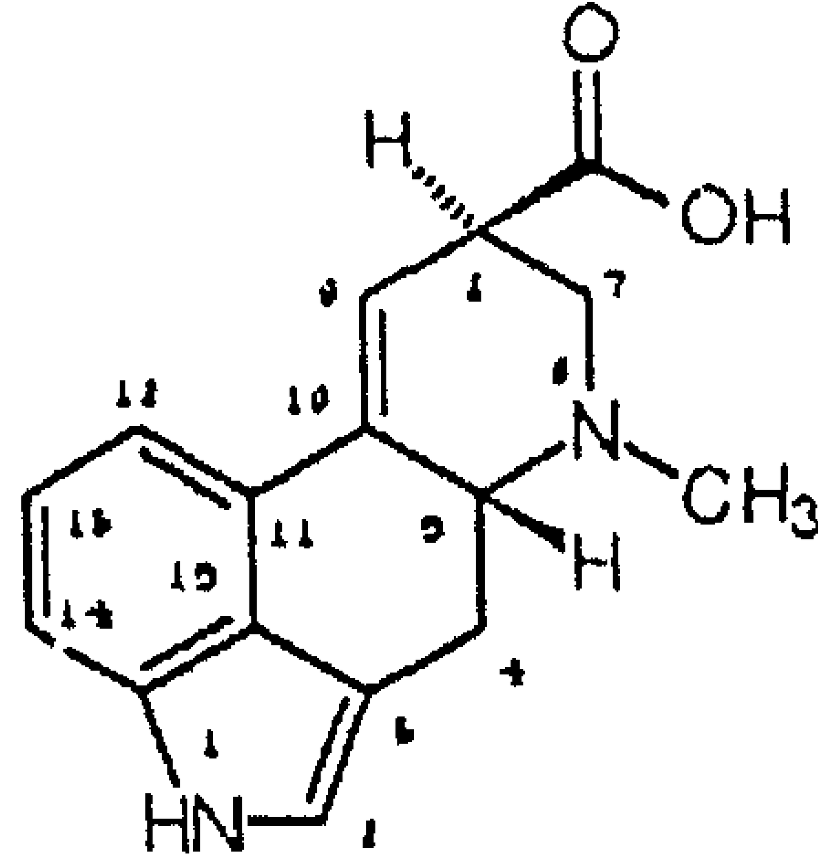
- Lysergic acid وهو تركيب عام لكل الـ ergot alkaloids تم فصله فى عام 1934، Lysergic acid alkaloids تشمل:
ergotamine and lysergic acid amide(ergine)

التركيب الكيميائى لكل من Ergotamine, Lysergic acid كالتالى:



Ergotamine

12'– Hydroxy–2'–methyl–5' – α- (phenylmethyl) ergotamine–3', 6', 18–trione,$C_{33}H_{35}N_5O_5$



Lysergic acid

9,10–Dihydro–6–meythylergoline–8–carboxylic acid

هذه المركبات تنتج كخليط سام من القواعد النيتروجينيه فى الأجسام الحجرية sclerotia لأنواع من الـ *Claviceps* وهو أحد مسببات الأمراض الشائعة للأنواع النجيلية المختلفة، وفى حالة أكل هذه الأجسام الحجرية المحتوية على ergot من الحبوب المصابه (ergot sclerotia) والتى تكون فى العادة فى صورة الخبز المصنوع من الدقيق الملوث تكون مصحوبة بمرض التسمم الأرجوتى للإنسان the human ergotism disease المعروف تاريخيا باسم حريق سانت أنتونى، ويوجد صورتان من هذا المرض هما:

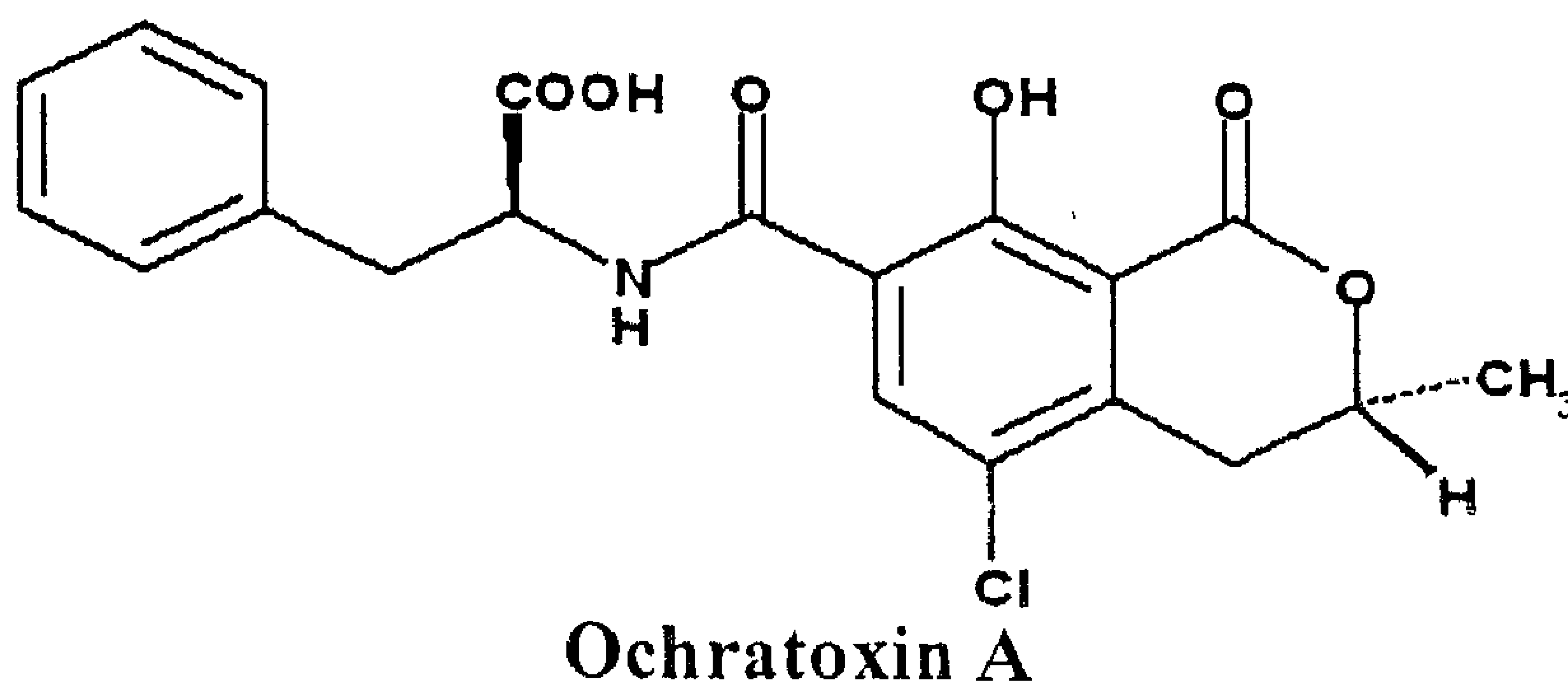
- الغرغرينا gangrenous المؤثرة على إمداد الدم الى الأطراف بطريقة قاسيه.
- التشنجات convulsive ergotism الذى يؤثر على الجهاز العصبى المركزى.

الـ human ergotism منتشر فى أوربا فى الأعمار المتوسطة، عموما الطرق الحديثه لتنظيف الحبوب تخلصت تقريبا من الـ human ergotism كمرض للإنسان، ولكنه مازال مشكلة بيطرية خطيرة جدا، والحيوانات الأكثر تعرضاً للخطورة هى

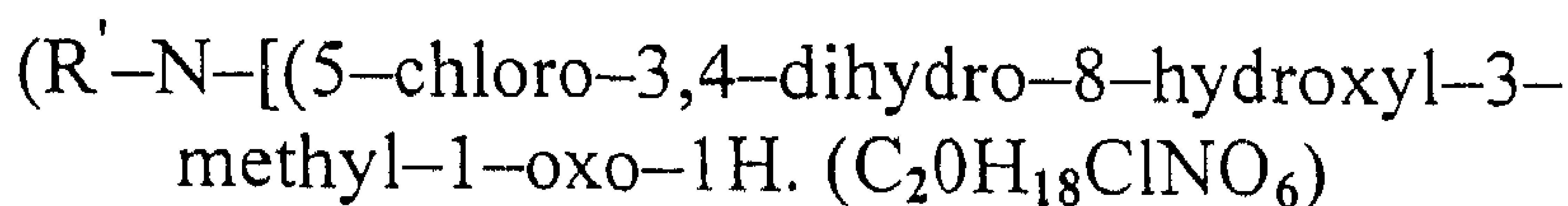
الأبقار، الأغنام، الخنازير، الدجاج. الأعراض الطبية للـ ergotism فى الحيوانات تشمل الغرغرينا، الإجهاض، التشنجات، خفض الرضاعة مع حساسية مفرطة. تأثيرات الـ Ergot Alkaloids العديدة أثارت اهتمام الأطباء والصيادلة حيث العديد منها يسبب انقباض الـ smooth muscle ولقد لوحظ ولزمن طويل أن الموشى التى تتغذى على النجيل المصاب بالـ ergot يحدث إجهاض للحوامل منها.

تم اكتشاف hallucinogen lysergic acid diethylamide والذى بخلطه مع الأمينات المختلفه يؤدى الى ارتباط الببتيد مع lysergic acid لإنتاج ergobasine وهذا الناتج يسمى أيضا (ergonovine and ergometrine) ويعتبر ذلك أول شبه تخليقى للـ ergot alkaloids

٤ – Ochratoxin A



Ochratoxin A


(R'–N–[(5–chloro–3,4–dihydro–8–hydroxyl–3–methyl–1–oxo–1H. ($C_20H_{18}ClNO_6$)

تم اكتشاف Ochratoxin A عام 1965 كناتج تمثيلى metabolite للفطر *A. ochraceus* وذلك من بين عديد من الميتابوليت الفطرية خلال التعرف على سموم فطريه جديدة، وبعد ذلك تم عزل هذا المركب من عينات الذرة التجارية

فى الولايات المتحدة الأمريكيه كمادة سامه قويه للكلى potent nephrotoxin. لقد وجد كثير من أعضاء عائلة الـ Ochratoxin كميتابوليت لأنواع كثيرة مختلفة لجَنس *Aspregillus* منها:
Aspergillus alliaceus, A. auricomus, A. carbonarius, A. glaucus, A. melleus and *A. niger*

وبسبب أن *A. niger* يستخدم بدرجة كبيرة فى إنتاج الأنزيمات وحمض الستريك لاستهلاك الإنسان فمن الأهمية ضمان أن السلالات الصناعيه تكون غير منتجة لهذه المركبات. لقد ثبت أن الفطر *Penicillium verrcosum* وهو ملوث شائع للشعير هو الوحيد فقط من هذا الجنس منتجاً لـ Ochratoxin.

وكما هو معروف فإن المادة التى ينمو عليها العفن، مستوى الرطوبة، درجة الحرارة ووجود microflora بصفة تنافسيه تتداخل مع مستوى المادة السامة الناتجة. ومن ناحية أخرى وجد Ochratoxin A فى الشعير، الشوفان، القمح، coffee beans ومنتجات نباتية أخرى، والشعير خصوصا احتمال تلوثه كبير جداً. ولقد وجد هذا المركب فى النبيذ المصنوع من العنب الملوث بالفطر *A. carbonarius*.

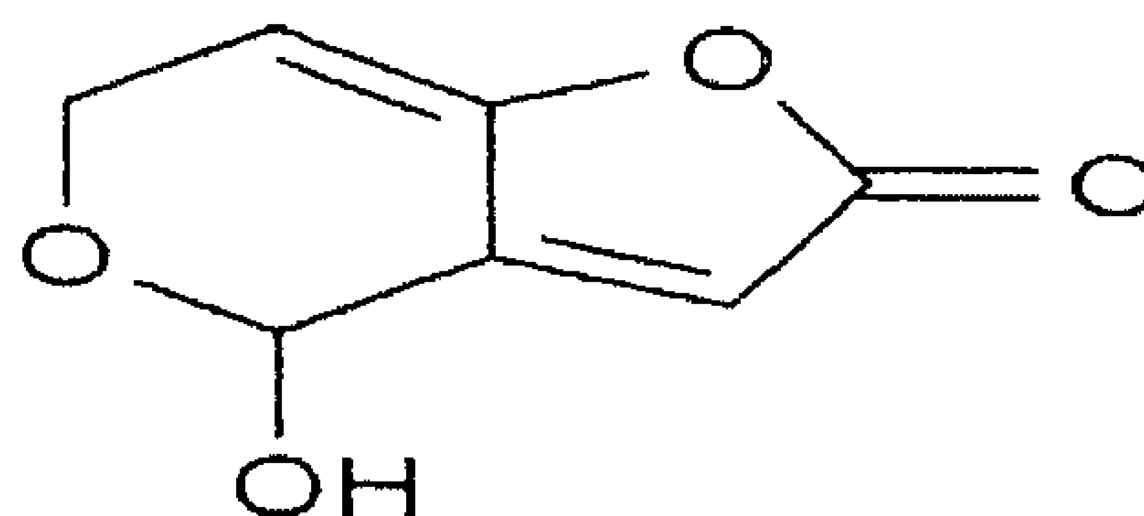
فيما يتعلق بالسموم الناتجة من الجنس *Aspregillus* وجد Ochratoxin A قوى جداً مثل أفلاتوكسين، وتعتبر الكلية kidney أول الأعضاء المستهدفة ولذلك كان ochratoxin A سام للكلى nephrotoxin فى كل الحيوانات التى تمت دراستها. ووجد كذلك فى الحيوانات أن الـ ochratoxin A سام للكبد ومسبب قوى للسرطان والطفرات potant teratogen & carcinogen وأكثر الاحتمالات سمية للإنسان هو الذى له أطول فترة عمر للتخلص منه.

الـ ochratoxin A يؤدى الى خلل فى فسيولوجيا الخليه، وتأثيره الأولى يكون مصحوبا بالإنزيمات المتواجدة فى ميتابولزم الحامض

الأمينى فينايل ألانين بواسطة تثبيط الإنزيم المتواجد فى تخليق معقد phenylalanine – t RNA، ووجد أيضا أنه يثبط انتاج ATP فى الميتوكوندريا، وينبه أكسدة الليبيدات. ولقد تم اكتشاف ochratoxins فى الدم وأنسجة بعض الحيوانات، وفى اللبن فى الحيوانات والانسان.

توجد أراء أن السموم الفطريه من النوع ochratoxins لها علاقة بمرض endemic Balken nephropathy يصيب الإنسان وهنا يحدث التهاب كلوى مزمن ومتقدم والذى حدث فى السكان التى تعيش فى مناطق مقاربة لنهر الدانوب فى بعض مناطق من رومانيا، بلغاريا ويوغسلافيا سابقا، حيث وجد هذا المركب فى سيرم الانسان عندما كان الطعام ملوثا بالسموم الفطرية من نوع الـ ochratoxins وكان ذلك منتشراً فى العائلات المصابه بأورام القنوات البولية و الـendemic Balken nephropathy عنه فى العائلات غير المتأثرة. وبالاضافه الى التسمم بالـ ochratoxins فان هذا المرض قد يرجع الى عوامل وراثية، المعادن الثقيله، وكذلك بعض العوامل الطبيعية غير المعروفة. ولقد قررت اللجنة العلمية للاتحاد الأوربى European Union Scientific Committee أن قيمة خطر تعرض الإنسان لـ ochratoxin A تصل الى مستوى أقل من 5 ng / kg b.w/day

٥- Patulin



Patulin

4 – hydroxyl – 4H – furo[3,2 C] – pyran- 2 – (6H) – one

ينتج الـ ptulin بواسطة مسببات العفن المختلفه، وقد تم فصله فى أول الأمر عام 1940 كمضاد ميكروبى نشط من الفطر *Penicillium patulum*، ولقد تم تسمية هذا الفطر بعد ذلك *P. urticea* وحاليا *P. griseofulvum*. وتم فصل الـ ptulin كمادة سامه من الفطر *P. expansum* وكذلك من أنواع فطرية أخرى من *Aspergillus* and *Peacilomyces*، ولقد أعطى أسماء أخرى مثل :

Penicidin, mycocin-C, expansin, claviformin, clavacin

ولقد وجهت الدراسات الأولية على نشاطه كمضاد حيوى، وتم اختباره كرشاش للأنف والحنجرة لعلاج البرد العام، وكمرهم لعلاج الاصابات الجلديه الفطريه، وخلال عامى 1950/ 1960. وجد أن ptulin سام للنباتات والحيوانات مانعا تأثيره الطبى كمضاد حيوى، وتم تقسيمه خلال عام 1960 كسم فطرى mycotoxin.

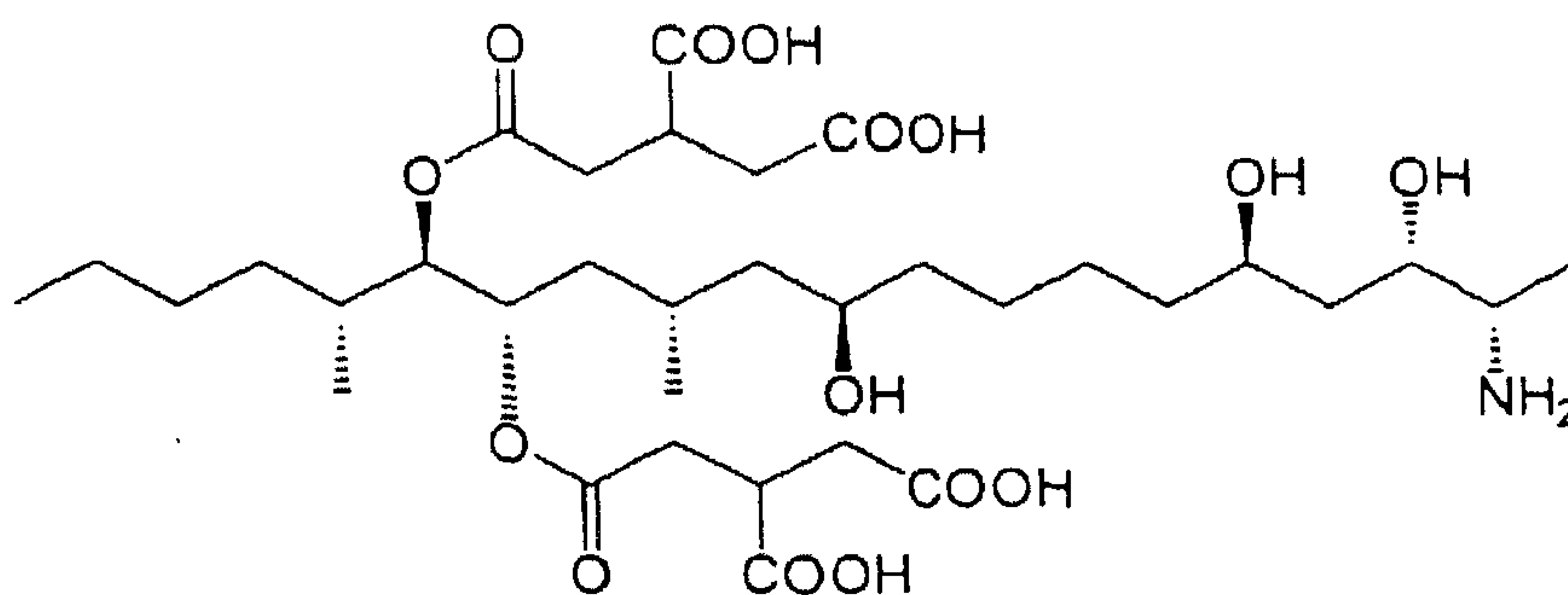
فى الوقت الحالى فإن الفطر *P. expansum* يسبب العفن الأزرق الطرى فى التفاح والكمثرى، الكريز الأحمر والتين، وهذا المركب وجد فى عصير التفاح غير المختمر حيث أنه يتحطم بواسطة عملية التخمر وعلى ذلك لم يتواجد فى مشروب التفاح مثل مشروب سيدر. وجد أن الـ ptulin لم يظهر له تأثير سرطانى إلا أنه وجد يسبب ضرراً لنظام المناعة فى الحيوانات.

على وجه العموم فى عام 2004 وضعت اللجنة الأوربية حدوداً لتركيزات ptulin فى منتجات الغذاء: 50 µg / kg فى كل تركيزات عصائر الفاكهة، 25 µg / kg فى التفاح الصلب المستعمل للاستهلاك المباشر، 10 *µ*g / kg لمنتجات تفاح الأطفال مشتملة على عصير التفاح. ومن ناحية أخرى فإن لجنة مشتركة من خبراء EAO/WHO قامت بتحديد الحد الأقصى اليومى المقبول من ptulin فى الأغذية هو 0.4 mg/kg b.w/day.

***Fusarium* Toxins:** تنتج سموم الفيوزاريم بواسطة أكثر من 50 نوع تابعة للفيوزاريوم ولها تاريخ لإصابة الحبوب مثل القمح والذره وتشمل مجموعة كبيرة من السموم الفطرية مثل مركب Fumonisins الذى يؤثر على الجهاز العصبى للخيل وقد يسبب سرطان في القوارض، ومركب trichothecenes الذى له تأثير سام مزمن بدرجه قوية ومميت للحيوانات والإنسان، ومركب zearalenone ليس له علاقة بأى تأثير سام فى الحيوانات والإنسان. ويوجد بعض الأنواع الأخرى من *Fusarium* Toxins تشمل:

Beauvercin and enniatins, butenolide, equisetin and fusarins

٦- Fumonisins



Fumonisins B1

المركب الأكثر انتشاراً من هذه المجموعه هو Fumonisins B1، ويعتقد أنه يتم تخليقه بواسطة تكثيف الحمض الأمينى ألانين alanine الى مشتقات acetates. الـ Fumonisins ينتج بواسطة عدد من أنواع الفيوزاريم مثل :

Fusarium verticillioids, F. proliferatum, F. nygamai as well as *Alternaria alternate f. sp. Lycopersici.*

Fumonisins تؤثر على الحيوانات بواسطة التداخل مع sphingolipid metabolism ويسبب ثقوب وأمراض متعددة فى الرأس leukoencephalomalacia فى الأرانب، وكذلك يسبب الإديما الرئوية pulmonary edema، hydrothorax فى الخنازير، ولها تأثير سرطانى وسام فى كبد الفئران.

أما فى الإنسان يوجد ارتباط محتمل مع سرطان المرىء، ووجود Fumonisins B1 كان له علاقة مع حدوث سرطان المرىء بدرجة عاليه فى كثير من دول العالم مثل جنوب أفريقيا، الصين، جنوب إيطاليا. ولقد تم عزل هذا المركب بمستويات عاليه فى دقيق وجريش الذرة فى سبعة عينات من السوبرماركت من أحد المدن الأمريكية والتى بها أعلى إصابه بسرطان الرئة. تعتبر الـ Fumonisins محبة للماء hydrophilic ولقد تم استخلاصها فى الميثانول المائى أو أسيتونيتريل المائى.

٧- Trichothecenes

هذا النوع من المركبات يشكل مجموعة من أكثر من sixty sesquiterpenoid metabolites تنتج بواسطة عدد من الأجناس الفطريه مثل :

Fusarium, Myrothecium, Phomopsis, Stachybotrys, Trichoderma, Ttrchothecium.

إلـ Trichothecene مشتق من الـ Trichothecin الذى كان أحد أعضاء المجموعة المتعرف عليها. كل الـ Trichothecenes تحتوى 12,13–epoxytrichothecene skeleton، ورابطه أوليفينيه مع سلاسل جانبيه مستبدله. ولقد وجدت كملوثات شائعة للطعام والعلف، واستهلاك هذه السموم الفطرية قد يؤدى الى نزيف مع الغذاء وقىء، أما التلامس المباشر يسبب التهابات جلديه dermatitis.

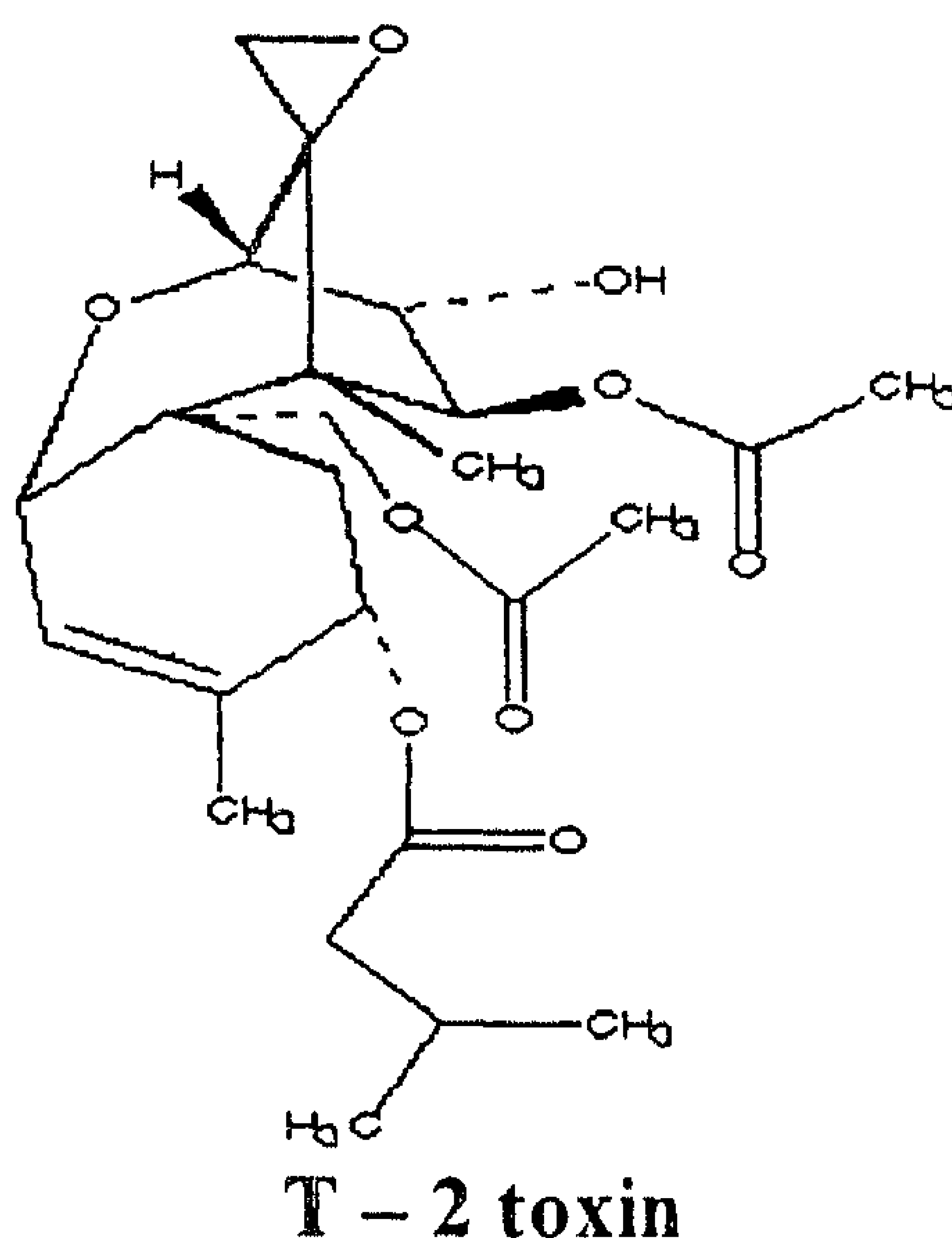
ويمكن تقسيم Trichothecenes:

الى macro–cyclic or non–macro–cyclic معتمدا على وجود macro–cyclic ester or an ester–ether bridge بين C_4 and C_{15}.

Non – macro-cyclic trichothecenes يمكن تقسيمه بالتالى الى مجموعتين فرعيتين كالتالى:

أ- مجموعة بها هيدروجين أو سلسلة استر جانبيه عند الموضع C_8 وتشمل:

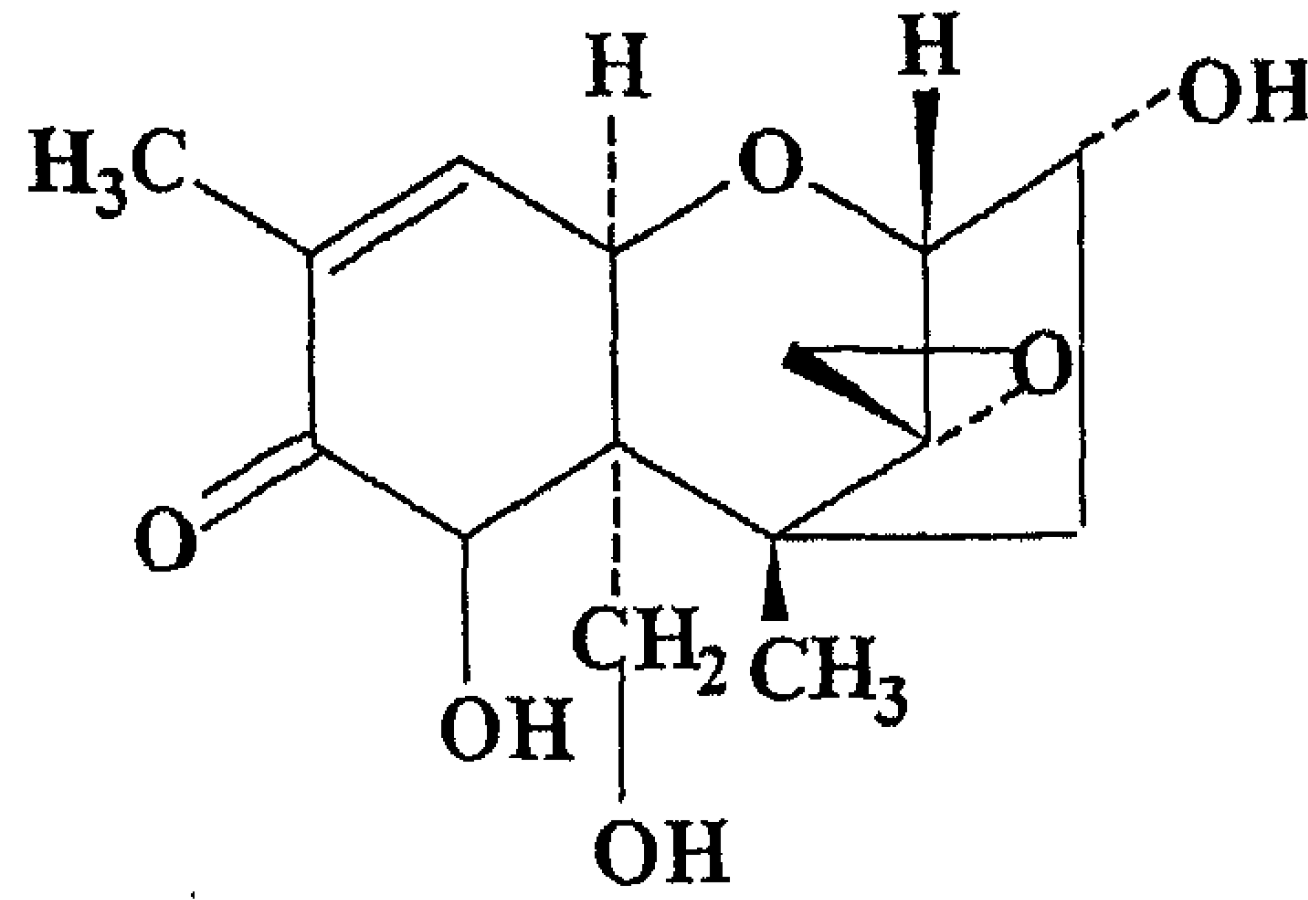
T–2 toxin, neosolaniol and diacetoxyscirpenol



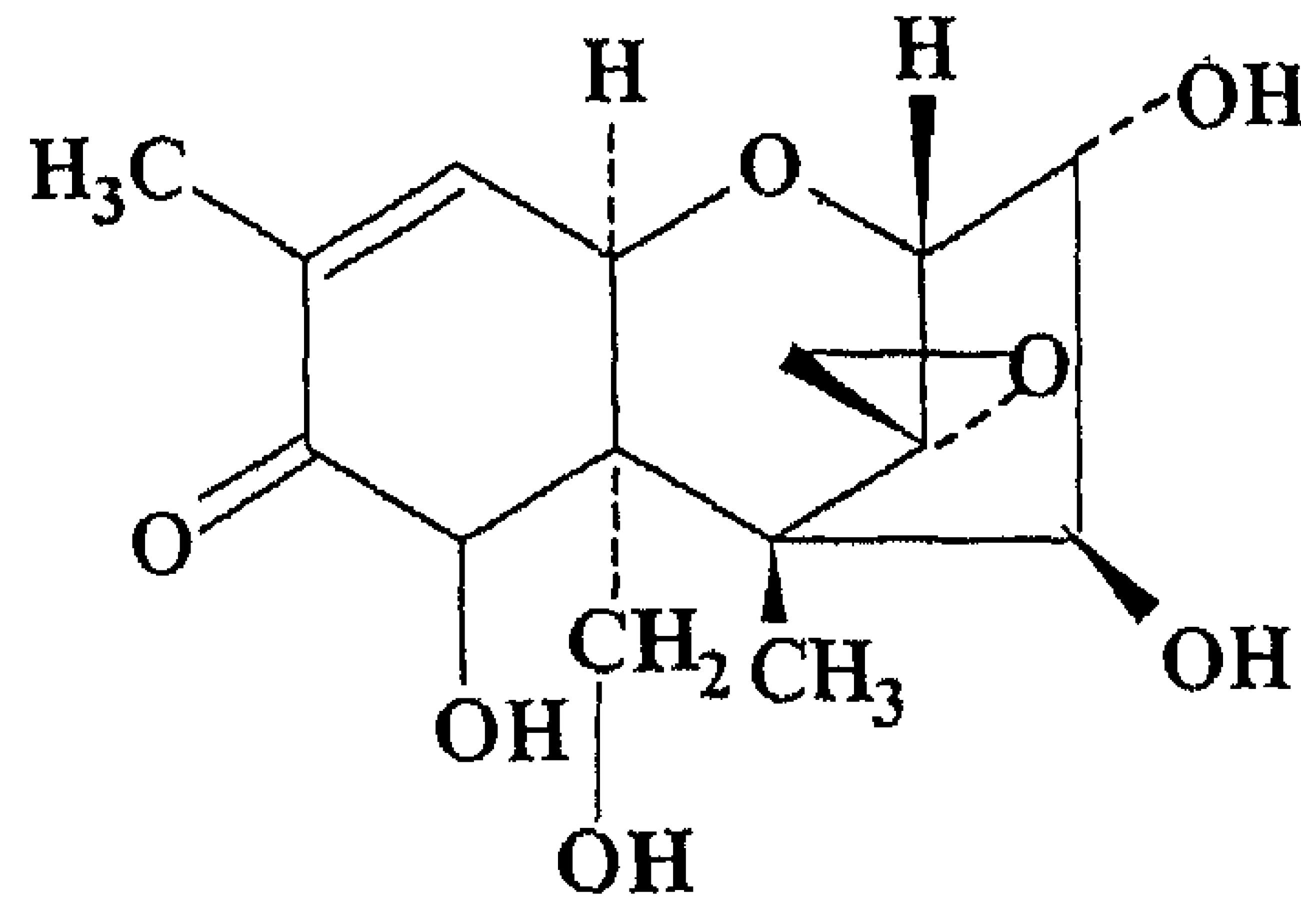
T – 2 toxin

ب- مجموعة تحتوى كيتون وتشمل:

fusarenon–x, nivalenol, deoxynivalenol



Deoxynivalenol



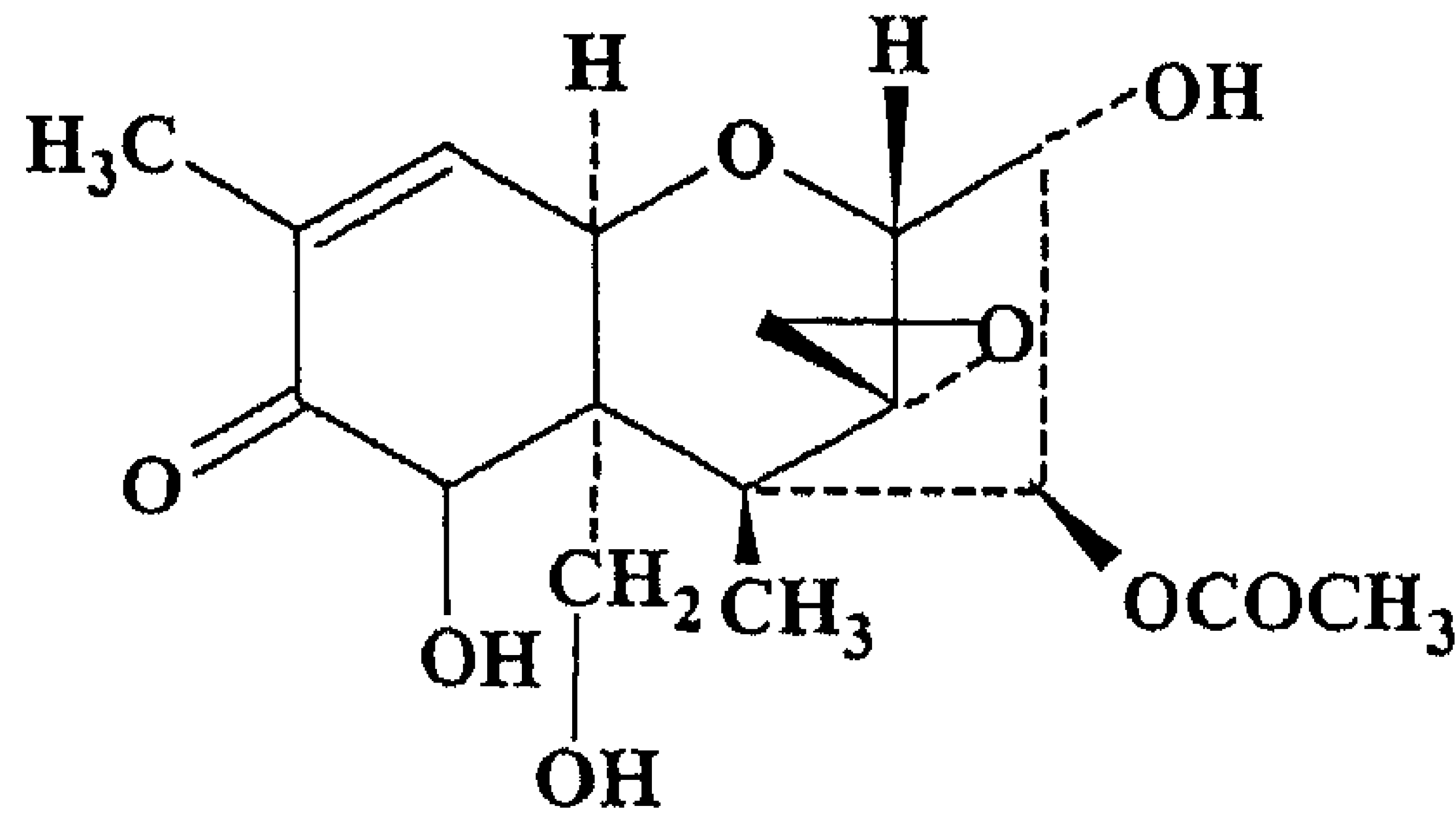
Nivalenol

12,13–Epoxy–3,4,7,15–tetrahydroxytrichothec–9–en–8–one, M.w 312

Nivalenol هو أحد السموم الفطرية من مجموعة trichothecenes المعزولة من *nival* Fusarium حيث يعتبر جنس *Fusarium* المنتج الرئيسى لمجموعة مركبات Non – macrocyclic trichothecenes.

تعتبر مجموعة trichothecenes مثبطات قويه جداً لتخليق الـ eukaryotic protein حيث تتداخل مع جميع مراحل تكوينه.

مركب trichodermin هو أحد المشتقات يثبط نشاط إنزيم peptidyl transferase



Trichodermin

12,13,–Epoxytrichothec – 9– en – 4 ol acetate
$C_{17}H_{24}O_4$, M.W 292, crystals, m.p : 48–60°C

كل الـ trichothecenes تثبط هذا الأنزيم بواسطة الارتباط لنفس ribosome – binding site، ولها تأثيرات مختلفة لها علاقة بالمجاميع الفعالة المختلفه. ومن ناحية أخرى وجد أن المجموعة 12, 13 – epoxide أساسية لتثبيط تخليق البروتين، بينما اختزال الرابطة المزدوجة 9, 10 – en يقلل السمية.

المركب Deoxynivalenol هو أحد السموم الفطرية الشائعة فى الحبوب وعندما تؤكل بجرعات عاليه بواسطة الحيوانات الزراعية فإنها تسبب دوار، قىء، وإسهال. أما عند الجرعات المنخفضة فإنها تسبب فقدان الوزن ورفض الطعام ولذلك deoxynivalenol يسمى فى بعض الأحيان vomitoxin or food refusal factor.

عموما الأعراض الناتجة بواسطة trichothecenes تشمل تأثيرات على معظم النظم الرئيسية تقريباً من جسم الفقاريات فيما يتعلق بتثبيط تخليق البروتين. وكان كل من T–2 and diacetoxyscirpenol أكثر قوة فى الدراسات الحيوانية وبالاضافه الى نشاطهم الخلوى السام، لهما تأثير موقف للمناعة يؤدى الى نقص المقاومة للميكروبات المعدية، ويسببان مدى واسع من الأعراض على الجهاز الهضمى والعصبى والجلد. وافترض أن هذان المركبان قد يكون تأثيرهما مصحوباً بمرض يصيب للإنسان

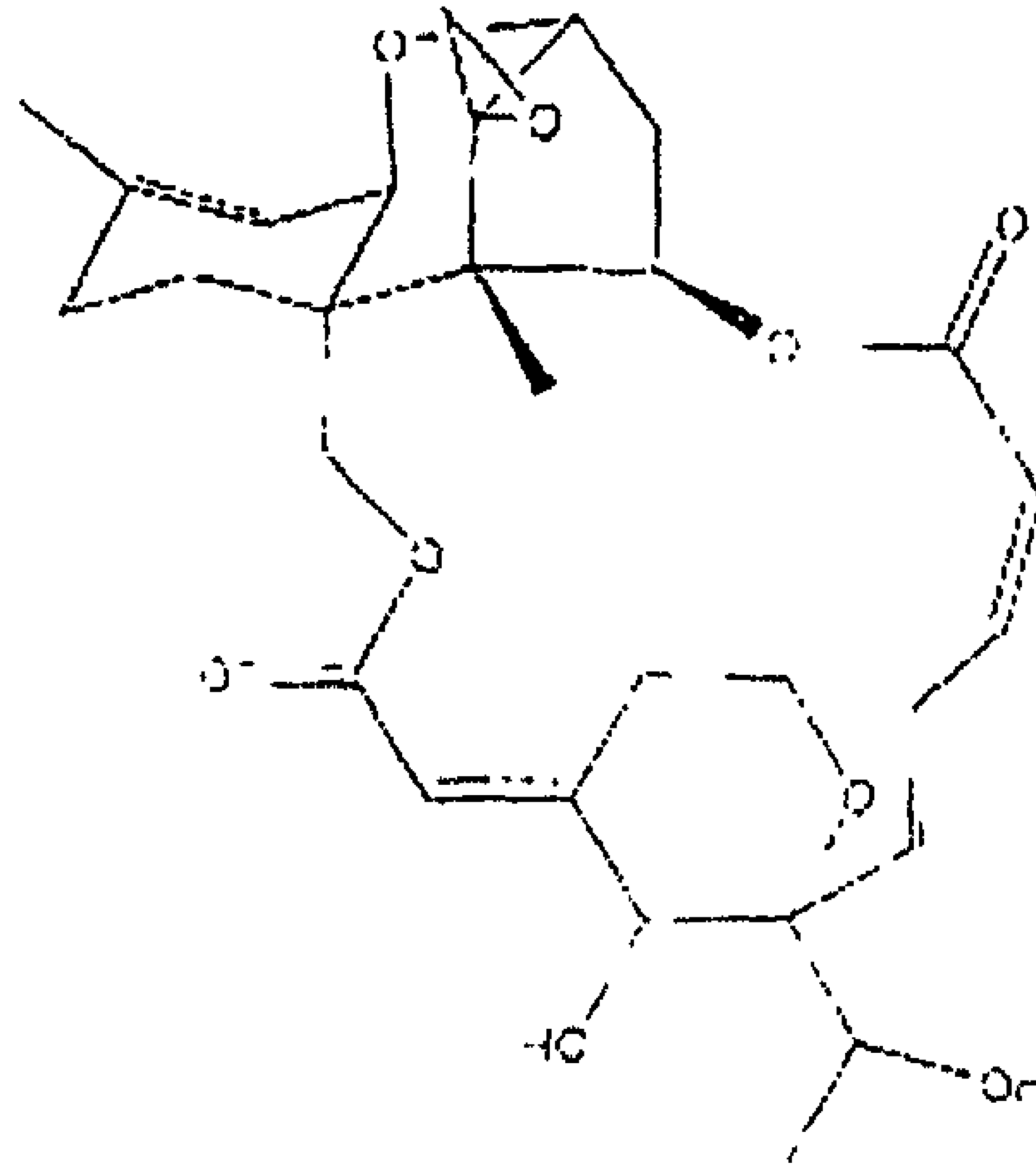
يسمى alimentary toxic aleukia وأعراضه تشمل التهاب الجلد، القيء، وتلف في أنسجة الكبد والصورة الحادة تكون مصحوبة بوجود بثرات في فراغ الفم، نزيف من الأنف والفم والرحم وخلل في الجهاز العصبي المركزى.

الـ **trichothecenes macrocyclic** تنتج أساسا بواسطة أنواع من:

Myrothecium, Stachybotrys, TRichothecium

والـ trichothecenes الناتجه بواسطة الفطر *Stachybotry arta* *(S. chartarum)* تشمل السموم التاليه:

Satratoxins, roridins, verrucarine, atranones

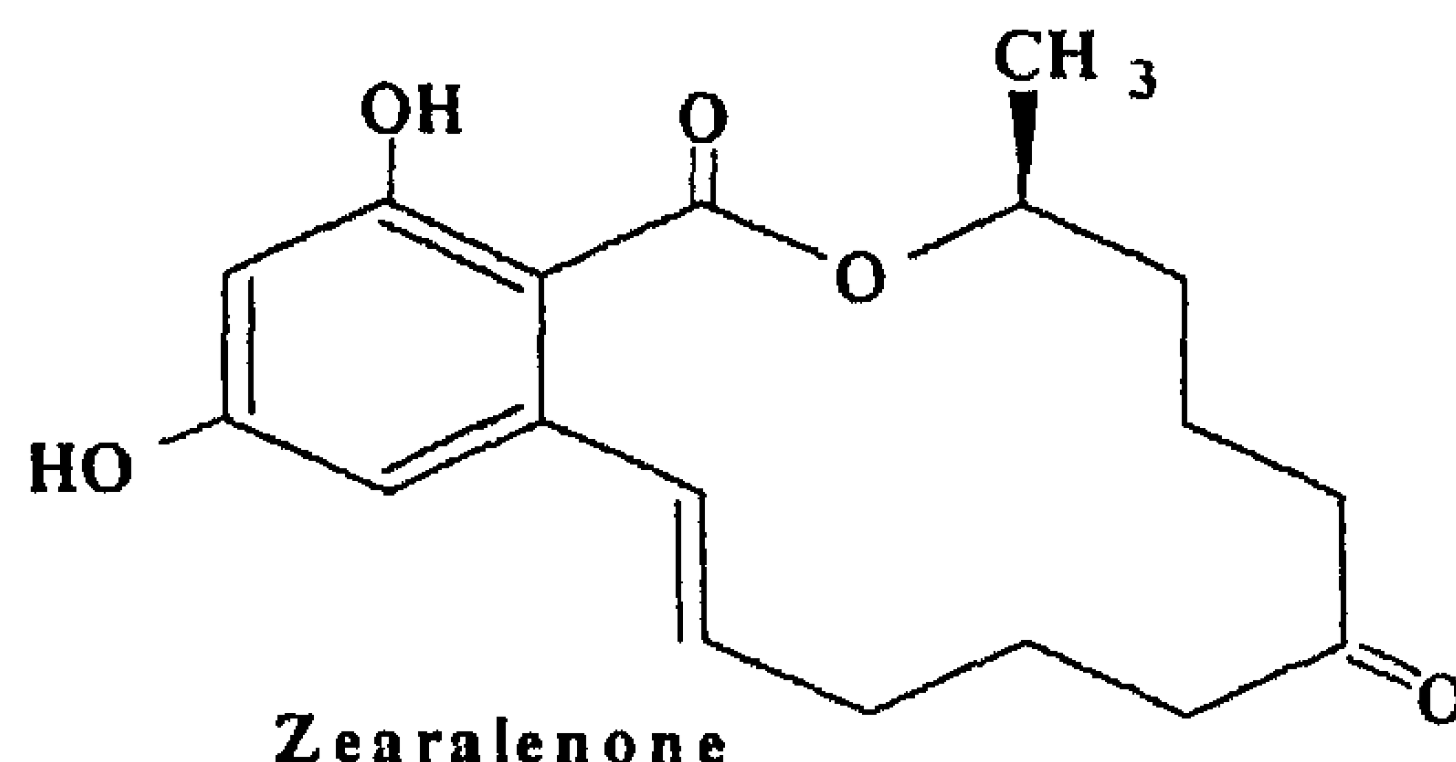


Satratoxins H

وهذه المواد السامة الناتجة بواسطة *Stachybotrys* وصفت في أول الأمر على أنها تسبب مرض للخيول يسبب موتا بدرجة عاليه نتيجة استهلاك التبن المصاب بالعفن، وحتى وقت قريب هذه المواد السامة تسبب أمراضا مهنية نادرة الحدوث لعمال المزرعة التى تتداول التبن المصاب بالعفن. على الأحوال أصبح واضحا أن فطريات *Stachybotrys* نتمو جيداً على كل أنواع مواد البناء

الرطبة ذات المحتوى السليلوزى فمثلا لوحات الجبس الرطبة بالماء، قرميد الأسقف ceiling tiles، ألواح الخشب المغطاة بالألياف، وحتى الغبار داخل أنابيبَ التهوية. ووجود هذا الفطر يكون مصحوبا بالنزيف الرئوي فى الأطفال.

٨- Zearalenone





$C_{18}H_{22}O_5$, M.W 318

6–[10–Hydroxyl–6–oxo–trans–1–undecenyl]–β–resorcyclic acid lactone (or)
3,4,5,6,9,10–Hexahydro–14,16–dihydroxy–3–methyl–1H–2–benzoxacyclotetradecin–1,7(8H)–dione

Crystals m.p 164–165°C

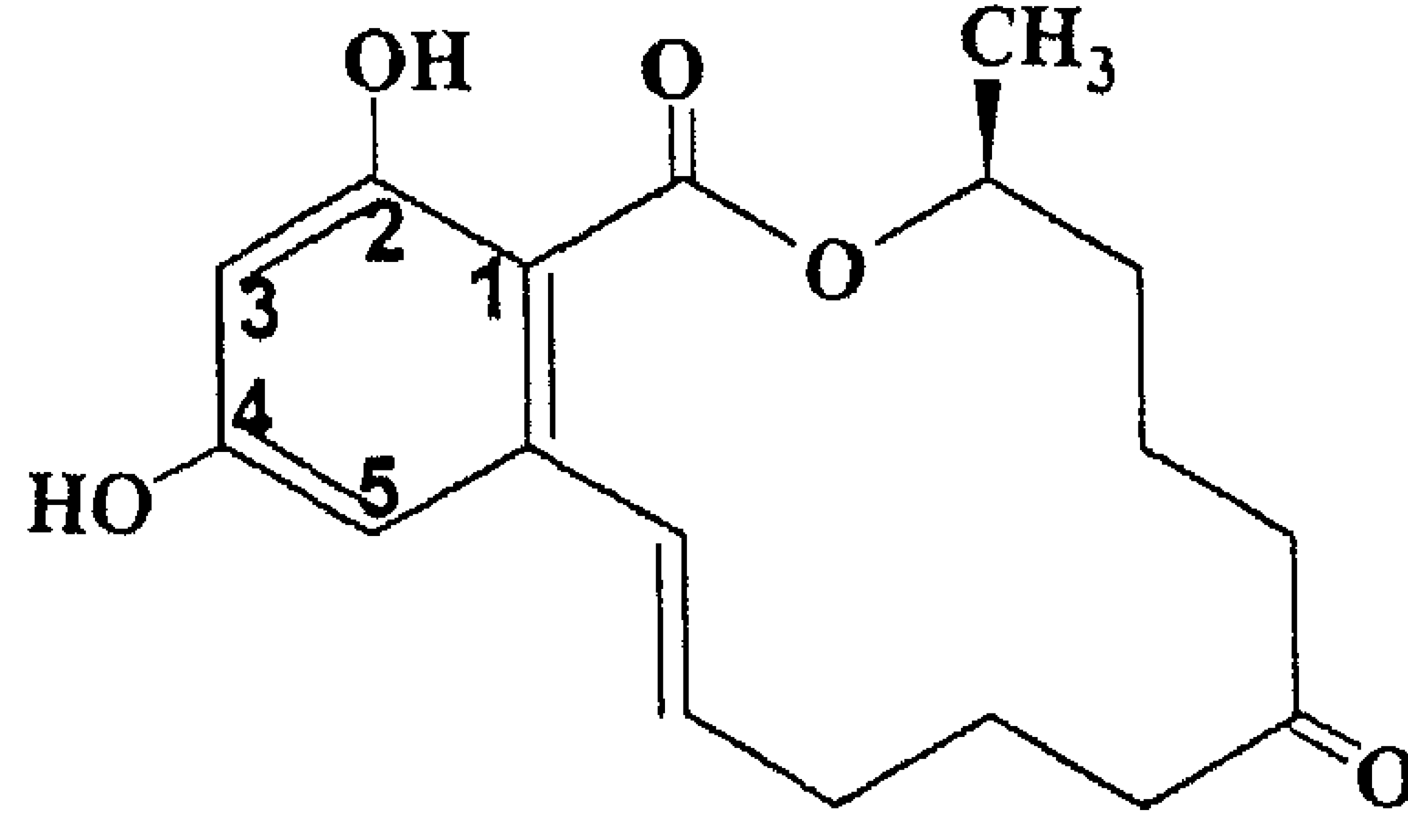
وهذا المركب هو ناتج تمثيل ثانوى (ميتابوليت) من الفطر *Fusarium graminearum* (Gibberella zeae)، والاسم zearalenone مشتق كلآتى من:
G. zeae، resorcyclic lactone، en - لوجود رابطه مزدوجة بين C_2 to $1'$ – C، one - لوجود C_6 ketone. وهذا المركب معروف أيضا بأسماء أخرى مثل F–2 toxins and RAL ويصنف المركب zearalenone:

بأنه nonsteroidal estrogen or myco-estrogen وأحيانا يسمى phyto- estrogen.

Zearalenone مادة سامة اوليه تسبب عدم الخصوبة، إجهاض ومشاكل كبيرة فى عملية النمو والتربية فى الخنازير، ويتم تخليق هذا المركب حيويا من خلال polyketide بواسطة:
Fusarium graminearum, F. culmorum, F. equiseti and F. crookwellense

وكل هذه الأنواع هى ملوثات مألوفة فى محاصيل الحبوب فى جميع أنحاء العالم، ويوجد ارتباط بين استهلاك الحبوب المصابة بالعفن وبين إنتاج الاستروجين بدرجة عالية فى الخنازير. لقد وجد حديثا أن تركيزات zearalenone المنخفضه حتى 1 ppm تؤدى الى hyperestrogenic (استروجين عالى) فى الخنازير، أما التركيزات الأعلى تؤدى الى خلل فى عملية الحمل والأجنه مع الإجهاض ومشاكل أخرى، ولقد لوحظ أيضاً مشاكل فى التوالد فى الأبقار والغنم.

الصوره المختزله من zearalenone هى **Zearalenol** والتى تزيد نشاط الاستروجين وتركيبها كالآتى :



Zearalenol

2,4 – Dihydroxy – 6 – (6,10 – dihydroxy – 1 – undecenyl) – benzoic acid μ - lactone

على وجه العموم يلاحظ أن القوة البيولوجيه عالية جدا لمشتقات الـ zearalenone ولكن السمية الحقيقيه لها منخفضة حيث أن LD_{50} فى اناث الفئران أكبر من 10000 mg /kg وفى اناث خنازير غنيا 5000 mg / kg، بينما أقل من 1 ug / kg تظهر استجابه فى رحم اناث الخنازير، كما وجد أن الجرعة الآمنه الموصى بها للانسان من zearalenone تقدر بـ 0.05 ug /kg body weight/day.

الباب الرابع

السموم الفطرية وصحة الانسان

Mycotoxins and human health

الباب الرابع

السموم الفطرية وصحة الإنسان
Mycotoxins and human health

١- Amanita Toxin

عش الغراب السام (فطر سام toadstool) يسمى mycetismus وكانت مجموعة الـ *Amanita phalloides* من الفطريات الراقية هى المسئولة عن 95% من حالات الموت بواسطة عش الغراب السام فى العالم وكل المواد عبارة عن cyclic polypeptides بأوزان جزيئية تتراوح بين 800 إلى 1100.

الجرعة المميتة من الـ amanithins حوالى 0.1 ug/ kg b. w، ومن الـ phalloidin حوالى 2 mg/kg b.w – 1. والفطريات *A. phalloides* تحتوى على حوالى 1.5,7,8,10 مليجرام من الـ phallodin, α- amanitin, β-amanitin, γ-amanitin لكل 100 جرام من النسيج الطازج .

يوجد مجموعتان من السموم فى عش الغراب السام هى:

- Phallotoxins وتتركب من الـ phalloidin and phallin
- Amanitins تتكون من α and β- amanitin

تظهر أعراضاً معوية ومعديه بعد عدة ساعات من استهلاك عيش الغراب السام بواسطة الـ phallotoxins. أما سمية الـ amanitins فهى أكبر حوالى 10-20 مره مثل الـ phallotoxins وتسبب أضراراً كبديه وكلوية hepatorenal damage والتى تؤدى إلى ظهور أعراض متأخرة وفى معظم الحالات تؤدى الى الموت فى النهاية. ويوجد كمون لمدة 6 إلى 15 وقد تصل 20 ساعة. ويظهر المرض فى صورة ضرر شديد فى المعده والأمعاء يكون مصحوباً بضعف شديد فى القلب، إجهاد عضلى وعقلى مع هياج وغيبوبة ولكنه بعد يوم أو يومان يبدو

تحسن المريض. الظهور المميز لا يحدث حتى اليوم الثالث أو الرابع بعد الاستهلاك عندما يظهر نوع من القلق وعلامات التحلل الموضعى لأنسجة الكبد وقد ينشأ ضررا شديداً فى أنسجة الكلى الانبوبيه وعضلة القلب والمخ وقد يحدث الموت بعد 10-5 أيام والذى قد يرجع إلى فشل الكبد والكلى، تلف المخ مع غيبوبة متصلة أو إيقاف القلب.

٢- Ergot alkaloids

إصابة النجيليات والحبوب بأنواع فطريه من الجنس *Claviceps* ينتج نسيج صلب sclerotia (يتكون من تركيب هيفى). حبوب الغلال التى تحتوى ergot كانت السبب فى ظهور الوباء فى أوربا فى المائة عام الأخيره. فى عام 1951 فأن الانتشار والظهور المفاجئ للخبز المسمم "bread poisoning" فى مدن صغيره فى فرنسا، حيث الشوفان المصاب بالعفن تم بيعه وسط فرنسا بعيدا عن القانون (لتفادى ضرائب الحبوب) إلى المطاحن الذين قاموا بطحنه وخلطه مع الدقيق وتم بيعه للمخابز. وفى أغسطس 1951 كثير من الناس أكلت كميات صغيزه من الخبز المصنوع من هذا الدقيق الملوث، وأصبح حوالى 200 فرداً من الناس مريضاً وكذلك كثير من الحيوانات المنزلية والأسماك التى أكلت نفس الخبز وكان 25 فرداً يعانون من حمى شديده وهياج. ولقد حدث ظهور مفاجئ حديث فى أثيوبيا حيث 97 من 42 ألف أصيبوا بالـ ergotism المميت.

"التسمم الأرجوتزمى ergotism هو الذى ينشأ من أكل طعام معدى من أرز أو أى حبوب مصابه بالا رجوت".

الـ *Claviceps purpura* هو الفطر الشائع المنتج الـ ergot على القمح والشوفان، يعيش الفطر خلال الشتاء فى صورة نسيج صلب، كتله كثيفه من خلايا الفطر وفى العادة فان نسيج الفطر الصلب sclerotia تكون أكبر إلى حد ما وأقل كثافة عن بذور العائل النباتى التى تنشأ وتتكاثر عليه.

Ergot Alkaloids هى مشتقات للـ:

lysergic Acid(Ergotamine)
Dimethyl ergoline (agoclacine)
isolysergic acid (ergocristine) أو

التأثير الفارماكولوجى لهذه المركبات فعل سام سريع وقوى حيث تنبه العضلات الرقيقة الملساء فى الرحم وتضعف العضلات القابضة الدموية. وصف أعراض الـ ergot poisoning فى الأعمار المتوسطة حيث يوجد شعور داخلى بالحرارة والعطش الشديد، قرحات متعددة فى الجلد، شعور بالتهاب الأطراف، شعور بالتنميل تحت الجلد، جفاف الايدى والأذرع والأقدام والأرجل وتحولها إلى اللون الاسمر وقد تصل إلى انحلال عقلى. التسمم الحاد بالـ ergot فى الوقت الحالى هى مشكله أساسيه للأكل والأعراض تشمل القئ والإسهال، العطش الشديد شعور بالهياج، حساسية، نبض ضعيف وعدم تركيز. أما التسمم المزمن بواسطة الـ ergot يظهر فى صورة صداع نصفى migraine headache. و تصبح الأطراف باردة باهته وفاقدة الإحساس بسبب اختناق فى الاوعيه الدموية وتؤدى إلى قلة سريان الدم ويصبح المشى مؤلم.

٣- مرض العفن القرنفلى Pink Rot Disease

قد يعرف بأنه عفن الكرفس أو العفن القرنفلى هو مرض فطري ينتج بواسطة الفطر *Sclerotinia sclerotiorum*. ففى عام 1961 تم تسجيل التهابات جلديه نتيجة سمية ظاهرية بين منتجى (حاصدى) الكرفس. ويعتقد أن التعرض لزيت الكرفس وضوء الشمس هو المسئول عن الالتهابات الجلدية وكانت الاصابه شديدة جداً نتيجة تداول الكرفس المتعفن.
تم عزل اثنان من الـ psoralens والتعرف عليها من العفن القرنفلى فى الكرفس. الـ psoralens ومجموعة الـ linear furocoumarins تحتوى حلقه فيوران متداخلة عند المواضع 2,3 لذرتى الكربون C_6, C_7 فى مركب الكومارين.

المناطق المتأثرة هى الأيدى والأذرع الأمامية، ولكن الأرجل السفلية، الصدر، البطن والظهر تتأثر إذا كان العاملون يرتدون شورت ولا يرتدون قمصان، ويمكن القول أن حدوث التأثير يكون أكبر بعد المطر وقبل استعمال مبيد فطرى لمكافحة النمو الفطرى على الكرفس ولقد استخدم كل من:

8-methoxypsoralen and trimethyl psoralen لعلاج المرض الجلدى vitiligo الذى يتميز بظهور بقع بيضاء على الجلد والناتج من الاضطراب الوظيفى للـ melanocytes والتى ترجع أساساً إلى فقدان وظيفة tyrosinase system . وفى حالة الإهمال فى استعمال الـ psoralen كجوهر لسمرة البشرة من التعرض لأشعة الشمس لزيادة سمرة الجلد فان استعمال كميات كبيره من الجوهر وبعد التعرض للشمس يظهر التهابات جلديه شديدة.

ولقد أن وجد أن تناول طعاماً يحتوى 20 mg من 8-methoxypsoralen أو أكثر يؤدى إلى حدوث دوخه وقئ ودوار وإثارة عمليه وضرر فى الكبد.

٤- Alimentary Toxic Aleukia (ATA)

ظهر فى الاتحاد السوفيتى كمرض دموى منذ عام 1913 نتيجة استهلاك الطعام الحامل للمرض من أكل خبز ملوث بفطر الفيوزاريم فى سيبريا وظهر بشكل مفاجئ خلال الحرب العالمية 1941 – 1945. وسميه الشوفان كان لها علاقة بنمو السلالات السامة من فطريات الفيوزاريم على بذور الحبوب التى امتصت رطوبة مع توفر بيئة نمو الفطريات المحبة للصقيع Cryophilic fungi، و لقد اقترح أن epoxytrichothecenes, T-2 Toxin تلعب دوراً فى ATA الروسى حيث لو حظ أن تسمم T- 2 فى الدجاج تشبه سميه السموم الفطرية mycotoxin poisoning المرتبطة بحبوب المطر الروسية.

وجد أن الـ trichothecenes تنتج بواسطة أنواع مختلفة من الفيوزاريم خاصة *Fusarium graminearum (F.roseam),*. *F.moniliforme, etc.* ومركبات trichothecenes هى مجموعه معقده من الـ Sesquiterpenoid تحتوى نواة الـ trichothecenes التى تتميز برابطة أوليفينيه عند الموضع 9,10 ومجموعة epoxy عند الموضع 12,13.

الوصف الروسى لأعراض المرض ينقسم إلى أربعه مراحل التى يبدو فيها المرض ناتج من الضرر السام إلى تأثير دموى، عصب لا إرادي ونظام الغدد الصماء .

المرحله الأولى :

بداية سريعة لتأثير الإثاره الى الجزء الأعلى من المعدة والأمعاء وذلك بعد ساعات قليلة من تناول وأكل منتجات الحبوب السامة. الطعام الملوث يكون الفلفل الحريف ويعطى إحساس بحرقان الفم إلى المعده. وفى خلال أيام قليله تظهر آلام معديه وفى الأمعاء مع دوخه وقىء وإسهال، ويستمر التأثير الموضعى لمدة 9-3 أيام ثم ينتهى تلقائيا حتى مع استمرار المريض التغذية على الحبوب السامة.

المرحله الثانيه :

يُحدث انحلال بطىء في نخاع العظام خلال 9 أسابيع ويظهر نزيف دموى من الجلد، ولقد أثبت فحص الدم نقصاً فى العدد الكلى لكرات الدم البيضاء، وقبل ظهور النزيف يتعرض بعض المرضى لمشاكل فى الجهاز العصبى، إثارة، ضعف، إجهاد، صداع، وخفقان سريع فى القلب مع ربو بسيط.

المرحلة الثالثة:

المرحلة الأكثر خطورة وتأتى فجأة من أربعة مظاهر أساسيه:

١- حالة النزيف: نزيف البشرة على الجلد، ومناطق الإبط والفخذ، الأذرع، الوجه والرأس.
٢- التحلل الموضعى للأنسجة necrosis فى الحنجرة وتنتشر خلال الفم الى الأوتار الصوتية، والرئة، المعدة والأمعاء.
٣- نزيف الدم ونظام النسيج الشبكى الفاسدة تسمح بإصابه بكتيرية فى المناطق المتحللة، وتستطيل الخلايا الليمفاوية.
٤- إستسقاء فى الحلق والحنجرة وضيق فى أعلى الحنجرة بسبب ضرر فى المريء يؤدى الى الموت بسبب الاختناق asphyxiation.

المرحلة الرابعه:

فترة الشفاء اذا تم العلاج فى مواعيده.

٥- أعراض الأرز المصفر Yellowed Rice Syndrome

إنتشر مرض قلبى حاد فى ريف اليابان ما يقرب من مائة عام مضت، ولقد تم تسجيل حالات المرض المسمى acute cardiac beriberi (مرض برى برى قلبى حاد ينشأ عن نقص فيتامين ب فى الغذاء) واستنتج أن الغذاء كان humn mycotoxicosis.

الـ acute cardiac beriberi كان مرتبطا باستهلاك أرز مقشور polished rice فى البدايه كان يعتقد أنه مرض نتيجة نقص الفيتامينات avitaminosis. وفى عام 1910 قامت الحكومه اليابانية باستبعاد الأرز المصاب بالتعفن من الأسواق والمحلات التجارية فلوحظ انخفاض الاصابه بالمرض المذكور بطريقه كبيره ومفاجئه.
واقترح فى دراسات أخرى أن هذا المرض ينتج من اكل الـ Yellowed rice ومثل هذه المادة الغذائية أصبحت ملونه وسامه للفئران وتنتج أعراضا مماثله لما يلاحظ فى الإنسان المصاب بالبرى برى beriberi

الفطريات المنتجة للمادة السامة هى:

- *P. enicillium islandicum* تنتج luteoskyrin and cyclochlorotine
- *P. citreoviride* تنتج citreoviridin
- *P. rugulosum* تنتج rugutosin and citrinin

الصيغة الجزيئية لـ citreoviridin هى $C_{23}H_{30}O_6$ ويحتوى مجموعة ميثوكسى واحده وروابط مزدوجة.

وكانت مظاهر أعراض مرض الـ acute cardiac beriberi تبدو خفقان القلب بسرعة وتنفس سريع ثم دوخه وقئ والتنفس بصعوبة. وفى خلال أيام قليله يعانى المريض من ألم جسدى مبرح والشعور بعدم راحة شديد جداً وانفعال شديد ويحدث تمدد للقلب اليمين ويصبح دقات القلب غير عاديه وانخفاض الضغط الدموى والنبض يكون سريع فقد يصل الى 120 beats/min ويكون المريض ضعيف جداً ويصاب بدوار، ويزداد صعوبة التنفس ويصبح الجلد فى الأطراف بارد، جاف، لونه مزرق ويصبح الصوت مبحوحاً وفى النهاية يصبح النبض ضعيفاً مع اتساع حدقة العين.

٦- مرض الكلى فى البلقان **Balkan nephropathy**

فى عام 1957 إلى عام 1958 ظهر مرض مستوطن مزمن غير عادى فى الكلى فى يوغسلافيا، رومانيا وبلغاريا مع انتشار نسبة 8-3% فى المناطق الريفية حيث يتم تجهيز الطعام فى البيوت. وكانت شائعة بين الإناث بعمر 50-30 عام ولقد وجد فى يوغسلافيا أن 7-6 % من عينات الدم تحتوى مركب ochratoxin A بتركيز يتراوح بين 3 and 5 mg/g serum.

اقترح أن السموم الفطرية أو الـ mycotoxins قد تكون العامل البيئى المسبب لهذا المرض للإنسان وأن وجود الـ ochratoxin A فى الغذاء مرتبطا بمرض الإنسان. المركب السام للكلى يوجد فى الطعام ومواد الطعام هو الأساس فى إحداث المرض وتحطم وضرر الكلية وجد مشابهاً لنفس الأعراض فى البلقان.

الفطريات المنتجه للسموم toxins هى :
Aspergillus ochraceous and Penicillium viridicatum

مركب ochratoxin عباره عن مشتق لـ dihydroisocoumarin الذى ينتج بواسطة أنواع من الـ *Penicillium* وستة أنواع من الـ *Aspergillus* مشتملة على *A. ochraceous*.

الأعراض الأولية لهذا المرض صداع، كسل، إجهاد وفقدان الشهية. وتظهر أعراض مفاجئة مثل جلد نحاسى اللون، اصفرار راحة اليد والقدم، أنيميا فى مرحلة ما قبل زيادة النيتروجين فى الدم، مع انتشار الدم فى البول ويرجع ذلك إلى أورام في ممرات البول. وأصبح من الواضح أنه مرض مستوطن فى القرى مع حدوث أورام فى الممرات البولية.

٧- سمية أفلاتوكسين : Aflatoxins poisoning

تاريخيا تم اكتشاف الأفلاتوكسين فى انجلترا عام 1960 كنتيجة لموت100000 (مائه ألف) ديك تركى صغير (باسم مرض Turkey – X) مع خسارة على الأقل بعض مئات آلاف دولار وقد تم تتبع المشكله إلى تلوث الغذاء خاصة المستورد بالسفن من الوجبات البرازيلية من الفول السودانى المستعملة كغذاء للدواجن والمنتجة بواسطة مطاحن الـ Old Cake Mills فى لندن وسميت هذه الوجبة Rosetti(من اسم السفينة المستوردة عليها). ولقد كانت هذه الوجبة مسببه للسرطان ولقد وجد أنها ملوثه بأحد الفطريات المعروفة *Aspergillus flavus*.

ولقد تم استخلاص وعزل المادة الفعالة من *A. flavus* بواسطة مجموعه من الباحثين فى انجلترا وهولندا عام 1962 وتم التعرف

عليها كيميائيا فى الولايات المتحدة عام 1963 وسميت aflatoxin حيث (a) من *Aspergillus* و (fla) من *flavus*.

وتعتبر الأفلاتوكسين مجموعه من النواتج التمثيلية الفطرية الثانوية sec. fungal metabolites والتى تؤدى الى حدوث وباء كسموم بيئيه ومسببات سرطانية للإنسان. وهى عبارة عن حلقات كومارين مستبدل عليها ومندمج بها جزء ثانى هيدروفيوران.
Substituted coumarins containing fused dihydrofuran moiety.
يوجد أربعة أنواع أوليه من الأفلاتوكسين هى B1,B2,G1 and G2 على التوالى من لونها الأزرق والأخضر الفلورسنتى على الـ TLC plates. ويمكن ترتيب الأفلاتوكسين من ناحية قوتها على السمية والقدرة على احداث السرطان كالآتى :

AFB1 › AFB2 › AFG1 › AFG2

وذلك على أساس قدرة الأفلاتوكسين على تحفيز انتاج الطفرات والضرر بـ DNA.

٨ – النواتج الحيوية للأفلاتوكسين : Aflatoxin metabolites

ا- AFM1 :

هو ناتج من إضافة هيدروكسيل الى AFB_1 عند الموضع 4، وقد تم اكتشافه أول الأمر فى لبن الأبقار التى تغذت على غذاء يحتوى AFB_1، وكذلك تم اكتشافه فى بول الإنسان المستهلك زبدة الفول السودانى الملوثة بـ AFB_1. **AFM_1** قد يحفز تكاثر أنسجة القناة الصفراوية بطريقة غير متساوية.

ب - Hemiacetal AFB_{2a}

ينتج بواسطة ميكروسوم الكبد من AFB_1 بإضافة جزىء ماء الى الرابطة المزدوجة فى 2, 3–vinylether وذلك بإضافة مجموعة هيدروكسيل عند الموضع 2 ومن المحتمل أن AFB_{2a} يلعب دوراً هاماً فى التأثير السام للأفلاتوكسين بواسطة الارتباط مع وتثبيط الـ

key enzymes فى الميتابولزم الوسطى مؤدياً الى تحلل أنسجة خلايا الكبد.

ج - AFP1

ينتج بإزالة مجموعة ميثايل من على الأكسجين فى AFB_1 (O-demethylation of AFB_1) ويكون ناتج الإفراز الرئيسى فى بول الحيوانات التى فى غذائها AFB_1 ولقد اكتشف فى صورة glucoronide and sulfate conjugate، ويتكون *in vitro* بواسطة ميكروسومات الإنسان. ويعتبر AFP_1 غير سام لأجنة الدجاج وغير مسبب للطفرات non mutagenic.

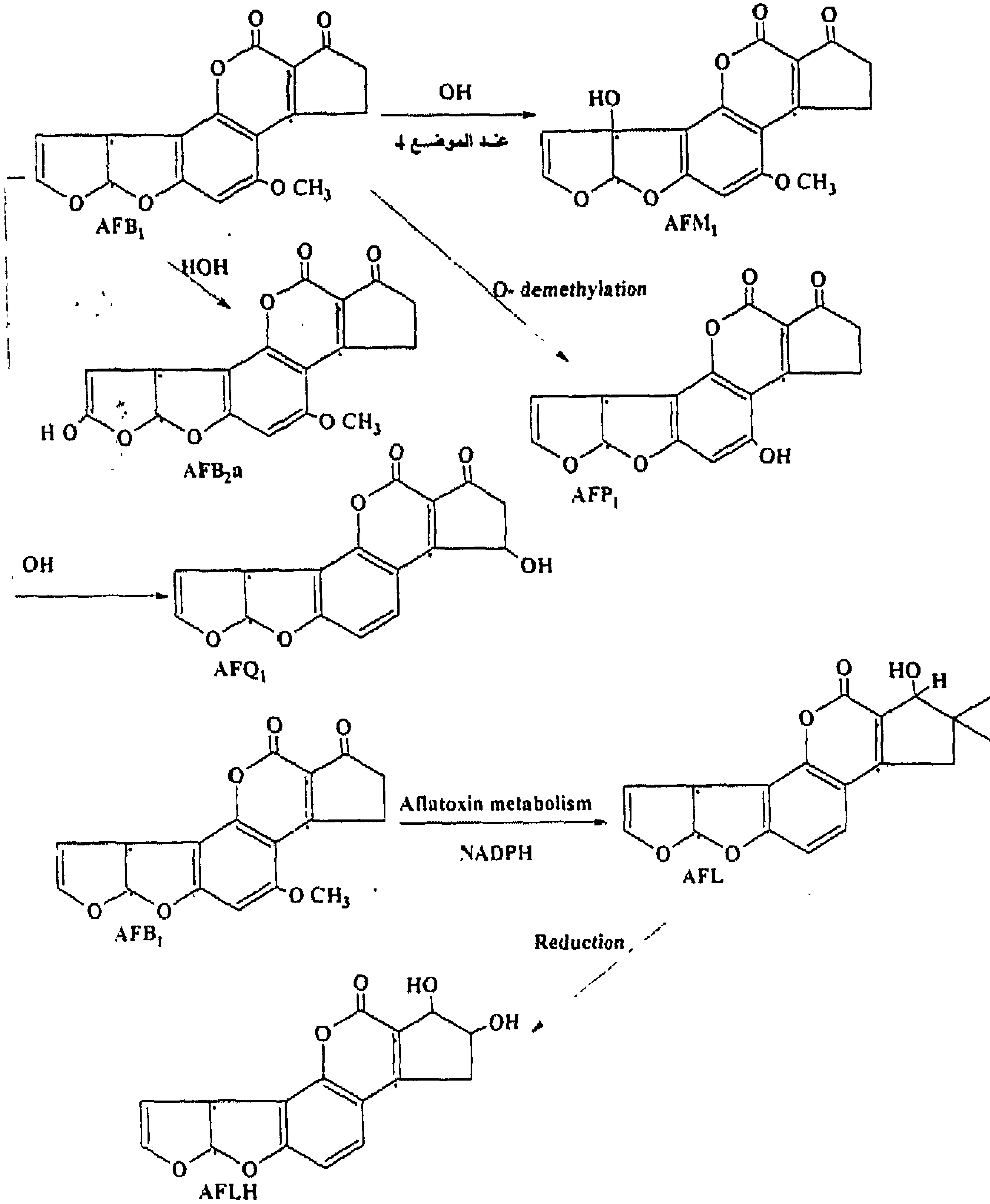
د - AFQ1

يتكون من AFB_1 بإضافة مجموعة هيدروكسيل على الحلقه على كربون β– لمجموعة الكربونيل فى حلقة cyclopentanone. AFQ_1 يمثل 1/3 الى 1/2 الناتج من AFB_1 بواسطة ميكروسومات الإنسان والقرد، وهذا الميتابوليت غير سام ولكن قد يكون mutagenic بنسبة 1– 2%. اختزال مجموعة الكربونيل فى الـ cyclopentanone فى AFB_1 الى مجموعة هيدروكسيل بواسطة NADPH فى وجود cytoplasmic enzymes ينتج AFL الذى تكون سميته 1/18 من سمية AFB_1 فى البط ذو عمر يوم واحد وذلك فى اختبار duct hyperplasia .

هـ - AFLH

يتكون من AFB_1 مستعملا إنزيم ذائب وميكروسومات من كبد الإنسان وهذا المركب هو مشتق dihydroxyl of AFB_1 بالاستبدال عند carbon and cyclopentanone carbonyl β –function ولم يكن ساماً لأجنة الدجاج .

ويمكن توضيح الأشكال التركيبية لهذه المشتقات كالاتى :



Aflatoxins Metabolism

بعض الأمثلة للسمية الحادة للأفلاتوكسين :

١- وجد تسمم 26 شخصاً فى تايوان عام 1967 نتيجة التغذية على أرز مصاب بفطريات التعفن moldy rice لمدة تصل 3 أسابيع

ولقد ظهر من التحليل أن العينات تحتوى حتى 200 ppb من AFB_1 .

٢- ظهر التهاب كبدى حاد فى كينيا عام 1982 ومات 12 من كل حاله، وتبين أن استهلاك الحبوب المخزونة هى السبب فى ذلك وتم اكتشاف aflatoxin فى عينات من الكبد بتركيزات 39 and 89 ppb ووجد تحلل فى أنسجة الكبد .

٣ – كانت حالات AFB1 فى أوغندا عام 1980 مصحوبة بموت شاب عمره 15 عاماً مع مرض كل من أخته وأخيه الأصغر نتيجة التغذية على غذاء يحتوى 1.7 ppm من أفلاتوكسين.

٤ – فى تشيكوسلوفاكيا (1972) ماتت حالات كثيرة من الأطفال، وتم اكتشاف AFB_1 فى عينات من الكبد.

٥ – فى ألمانيا (1972) مات رجل عمره 45 عام نتيجة أكل كميات من المكسرات nuts التى كانت مصابه بالعفن ووجدت AFB_1 فى عينات من الكبد.

الجدول التالى يوضح مقارنه بين تركيز AFB1 فى تشريح اجزاء من الإنسان والقرد المسممة بالـ AFB_1

Specimen	**AFB1 Conc. (ug/kg specimen or ml. fluid Human** Human	Monkey (AFB_1 mg / kg)
Brain	1 – 4	30 (40.5)
Liver	93	163(40.5)
Kidney	1 – 4	87(40.5)
Bile	8	163(40.5)
Stool	123	
Stomach content	127	
Intestinal content	81	

تتبع حالات الأفلاتوكسين فى الأنسجة مع حالات الكنترول يعتقد أنها تعكس التغذية المزمنة على مستوى منخفض من السموم الفطرية.

التسمم الأقل من الحاد من الأفلاتوكسين :

Aflatoxin and sub – acute poisoning:

ظهرت مثل هذه الحالات نتيجة التغذية على كميات كبيرة من الأفلاتوكسين لفترة طويلة :

١ – احتمالات مرتبطه بالتهاب الكبد الهندى :

فى أكتوبر 1974 كان موسم ممطراً غير عادياً أدى الى عفن ضار لمحاصيل الذرة القائمة واضطر الناس فى المناطق الريفية للتغذية على تلك الحبوب الملوثة نتيجة عدم وجود مواد غذائية بديله وبعد عدة أسابيع من استهلاك الذرة العفن أصبح كثير من الناس مريضا بالكبد ومات 106 شخصاً من 397 مريضاً.

٢ – احتمالات مرتبطة بالتليف الكبدى للأطفال الهندية :

Possible association with Indian childhood Cirrhosis:

تليف الكبد من الأمراض الشائعة المسببة للموت فى المستشفيات بين الأطفال تحت عمر 5 سنوات ويعانوا من غيبوبة كبديه . وجد أن الأطفال تعانى من مرض kwashiorkor (وهو مرض يصيب الأطفال فى جنوب أفريقيا وأماكن أخرى ويرجع فى العادة الى النقص الغذائى وأيضا الى كمية الأفلاتوكسين الموجودة فى الغذاء) وكان الأطفال تناولوا دقيق الفول السودانى لعدة أسابيع وتم اكتشاف أن دقيق الفول السودانى يحتوى 300 ppb أفلاتوكسين وظهرت أعراضاً ضارة بالكبد الى أن وصلت الى تليف الكبد.

Aflatoxin and Liver Cancer : أفلاتوكسين وسرطان الكبد

الأضرار الناتجة من التعرض للسموم الفطرية mycotoxins قوية جداً وموثقة. دليل ارتباط أفلاتوكسين مع سبب سرطان الكبد كان قوياً

فى تداخل حلقة الطعام الملوث، وتم إثبات ارتباط استهلاك افلاتوكسين مع سرطان الكبد فى كثير من دول أسيا وأوربا. عموما الدراسات الوبائية المرتبطة بتناول افلاتوكسين فى الغذاء مع أمراض الكبد فى الإنسان توضح أن افلاتوكسين ليس من الضروري أن تكون السبب الوحيد.

العلاقة بين الكيماويات والأفلاتوكسين :

الوجبات التى تحتوى على كميات ملحوظة من افلاتوكسين قد تحتوى سموم فطرية mycotoxins أخرى مثل :
Sterigmatocystin, ochratoxin, penicillic acid, etc …
- بعض المبيدات الحشريه من مجموعة الكلورين العضوية مثل DDT , Lindane
- nitrosamines وبعض السموم النباتيه مثل pyrrolizidine alkaloid وغيرها.

وجد أن التأثير المنشط synergistic effect للمركب dimethyl nitrosamine على أورام الكبد يتم تحفيزه بواسطة Sterigmatocystin (ناتج فطر *Aspergillus versicolor*) وهو أقل 10 مرات كمسبب سرطانى عن AFB_1. علاوة على ذلك فإن التأثير المنشط للمركب dimethyl nitrosamine على أورام الكبد يتم تحفيزه بواسطة AFB_1 المسبب القوى لسرطان الكبد.

ومن ناحية أخرى فإن تناول أفلاتوكسين والكحول فى نفس الوقت يمكن أن تعمل بالتنشيط synergistically فى ظهور سرطان الكبد فى الإنسان.

العلاقة بين الفيروس وأفلاتوكسين :

أثبتت الدراسات أن كل من فيروس التهاب الكبد (B) hepatitis B virus (HBV) والأفلاتوكسين يعتبرا جواهر هامة فى إنتاج الـ hepatocellular cacinoma، وكثير من الفحوصات أقرت أن هذين العاملين عبارة عن co – carcinogens. اقترح أن مخاطر hepatoma ليست أكبر فى حاملى HBV المزمن من

موزمبيق عنه من الـ USA، ولكن الاختلاف بين معدلات الـ hepatoma يرجع أساسا معدل حاملى HBV فى السكان. وقد تعمل أفلاتوكسين كجوهر ضد المناعة مسبباً زيادة فى حاملى HBV.

العلاقه بين المتطفلات وأفلاتوكسين :

الاصابه بالطفيليات قد تسبب الاصابه بالسرطان . وجد أن الجزء الشمالى الشرقى من تايلاند به معدل كبير من موت البالغين بواسطة الاصابه بسرطان الكبد وهى منطقة أكثر تعرضاً للأفلاتوكسين، وتم تسجيل التداخل بين طفيل الملاريا فى القوارض وأفلاتوكسين مع أورام خلايا الكبد، وقد ترجع الميكانيكية التى بها الاصابه بالملاريا تزيد أو تقلل من تحفيز الأفلاتوكسين لأورام الكبد الى المناعة وتنشيط تكوين الجسم المضادmalarial parasite antigen.

العلاقة بين الأفلاتوكسين وأنواع أخرى من السرطان:

وجد أن الغبار الملوث بالأفلاتوكسين قد يكون العامل المسبب لسرطان الأنف nasal cancer وليس سرطان الكبد. ومن ناحية أخرى، فإن مهندسا كيماويا فى تشيكوسلوفاكيا مات من الاصابه بسرطان الرئة lung cancer حيث كان يعمل على طرق تعقيم وجبات الفول السودانى المصابة بالفطر *A. flavus*. قرر بعض البيوكيمائيون الانجليز أنه ظهرت حالات سرطان فى القولون colon cancer بعد التعرض للـ purified aflatoxins.

متبقيات أفلاتوكسين فى أنسجة الحيوانات:

أكبر إثبات لتواجد متبقيات السموم الفطرية فى الأنسجة الحيوانية الصالحة للأكل هو وجود aflatoxin M فى لبن الأبقار، ووجود ochratoxin فى كلى الخنازير.

على وجه العموم فإن التعرض لكميات كبيرة من أفلاتوكسين وبعض الـ mycotoxins الأخرى يحدث فقط فى المناطق ذو المناخ الاستوائى والتى بها الزراعة لا تتبع الطرق الحديثة. وعند تداول العاملون للحبوب المصابة بالعفن فقد يتعرضوا للـ airborne mycotoxins، ونفس الظروف توجد فى مصانع تجهيز

الأغذية فى حالة الحصول على الزيوت النباتية من البذور والمكسرات خاصة الفول السودانى وبذور الكتان.

وخلال العمل فإن كميات كبيرة من الغبار تعلو فئ مناطق العمل أثناء نقل النفايات وتعبئة المتبقيات، وتم تقدير مدى التعرض من العمل لمدة أسبوع (45 ساعة) لـ 0.039–2.5 ug aflatoxin وقد وجد أن11 من 55 عاملاً تعرضوا لأنواع مختلفة من السرطان:

4 cases of bronchial carcinomas, 1 carcinoma of bladder, 1 liver,1 gastrointestinal tract ,1 maxillary sinus, 1 prostate, 1 plastic carcinoma, 1 pleura mesothelioma

السموم الفطرية فى سلسلة الطعام :

Mycotoxins in the food chain:

السموم الفطرية فى سلسلة الطعام وعلاقتها بصحة الإنسان تشكل أهمية كبيرة، فقد تم تقدير أن 25% من محاصيل العالم تتأثر بالعفن أو النمو الفطرى، والإصابات الفطرية للمحاصيل تسبب نتائج اقتصادية خطيرة، وقد تتلوث السلع والبضائع بالميتابوليت السامة الناتجة والمعروفة بالسموم الفطرية mycotoxins.

يتعرض الإنسان للسموم الفطرية نتيجة استهلاك الطعام الملوث بهذه السموم، وكذلك انتقال السموم الفطرية ونواتجها الثانوية (ميتابوليت) الى المنتجات الحيوانية مثل اللبن، اللحم، البيض، والتعرض للهواء والغبار المحتوى هذه السموم، وقد يتلوث غذاء الإنسان عند مراحل مختلفة فى السلسلة الغذائية. التلوث بالسموم الفطرية قد يؤدى الى خفض اقتصادى معنوى فى الدواب المختلفة أو فى إنتاج اللحوم ومنتجاتها، ووجوده فى الطعام يؤثر بطريق غير مباشر وبشدة على صحة الإنسان. يتعرض عدد كبير من السلع للتلوث بالسموم الفطرية قبل وبعد الحصاد مما يسبب أمراضاً مصاحبة والتى تصيب الإنسان، وبعضها أمراضاً مزمنة والأخرى تأثيرها حاد فى الحال.

جدول (2) الأمراض التى تصيب الإنسان بسبب التلوث بالسموم الفطرية

Fungus الفطر	Mycotoxin Source مصدر السموم الفطرية	Disease المرض
1-*Fusarium spp*	(1) القمح ، الشعير ، الشوفان ، الأرز	1-Akakabio – byo
2-*F. spp*	(2)الخبز السام Cereal, grains	2-Alimentary toxic aleukia
3-*Penicillium spp*	(3) الحبوب Cereal grains	3-Balkan nephropathy
4-*Aspergillus spp,P.spp*	(4) الأرز	4-Cadiac beriberi
5-*Sclerontinia*	(5) الكرفس (العفن القرنفلى)	5-Celery harvester's disease
6-*Claviceps purpurea*	(6) Cereal grains, Rye	6-Ergotism
7-*A. flavus,A.parasiticus*	(7) Cereal grains , peanuts	7-Heptocarcinoma
8- *A. flavus,A.parasiticus*	(8) Cereal grains	8-Kwashiorkor
9-*F. verticillioids , F. prolliferatum*	Maize الذرة (9)	9-Neural tube defects
10- *F. verticillioids , F. prolliferatum*	(10) Corn	10-Oesophagal tumors
11-*Phoma sorghia*	(11) Millet	11-Onyalai
12-*Aspergillus spp*	(12) Cereal grains (grain dust)	12-Reye's syndrome
13-*Stachybotrys atra*	(13) Cereal grains (grain dust)	13-Stachybotryotoxiosis

من المعروف أن إلـ hydroxylated metabolite لأفلاتوكسين B1 هو أفلاتوكسين M1 والذى يفرز فى اللبن من 1-6% من الغذاء المستهلك، كما تم اكتشاف ochratoxin A فى الدم، الكلى، الكبد وانسجة العضلات من الخنازير فى دول أوربية مختلفة. وجد

cyclopiazonic acid (CPA) هو أحد الملوثات بجانب أفلاتوكسين فى اللحوم واللبن والبيض.

يوجد كثير من العوامل المتداخلة فى المسببات المرضية للـ mycotoxicosis مبينة كالآتى:

١ . العوامل العامة : مثل العوامل العرقية والوراثية الممتدة.

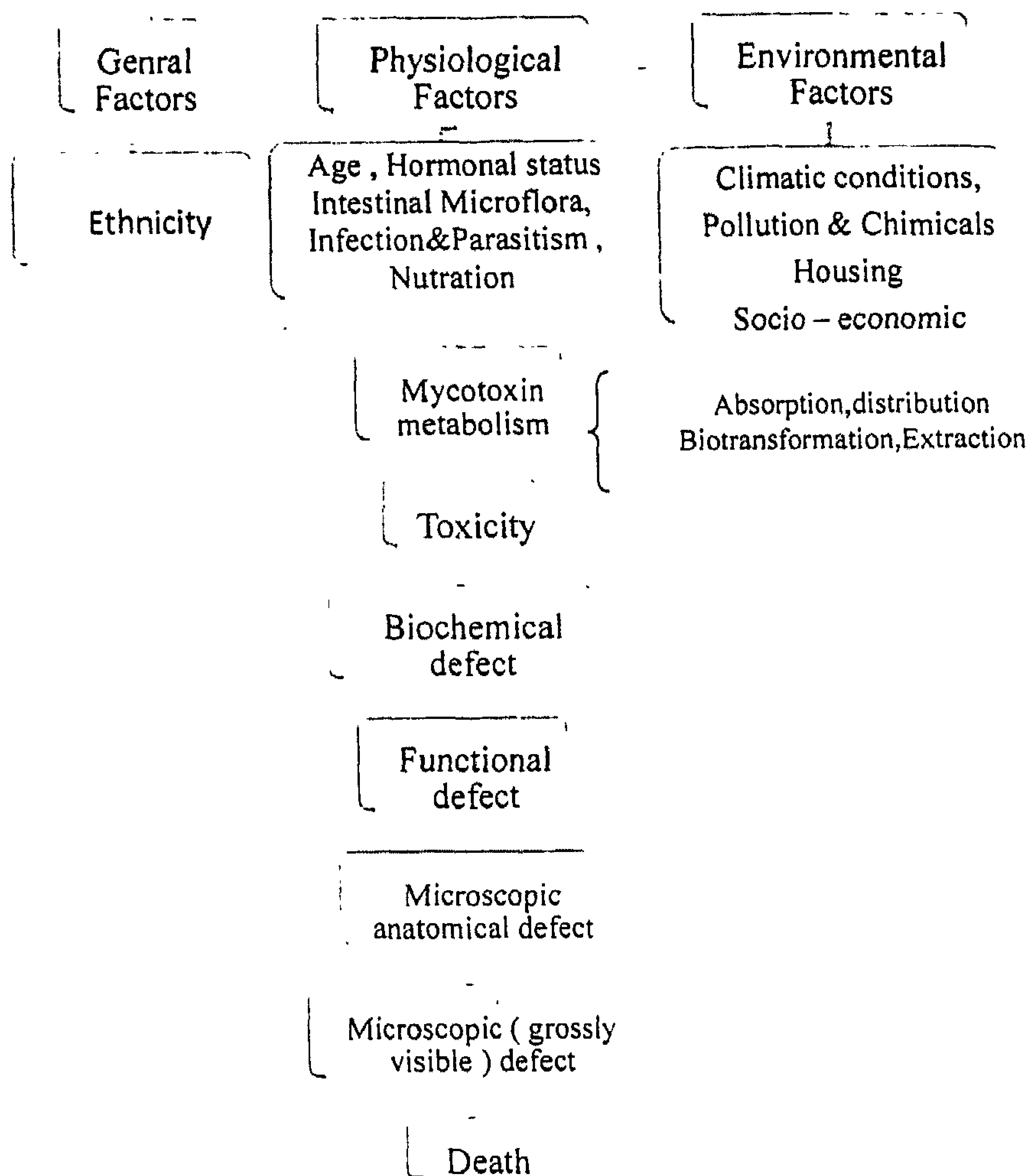
٢ . العوامل الفسيولوجية وهى كالآتى :

- العمر ، الحالة الهرمونية ، الفلورا الدقيقة المعوية ، التطفل (العلاقة بين الطفيل والعائل) ، التغذية.
- ميتابولزم السم الفطرى.
- السمية الناتجة.
- الخلل البيوكيميائى .
- الخلل الوظيفى.
- الخلل التشريحى ميكروسكوبيا.
- الخلل الميكروسكوبى (بالعين المجردة).
- الموت.

٣ . العوامل البيئية :

- ظروف المناخ ، التلوث ، تداول المواد الكيميائية ، المجتمع الإقتصادى.
- الامتصاص ، التوزيع ، التحولات الحيوية والأستخلاص.

ويمكن تمثيل ذلك فى الشكل التالي :



شكل (3) العوامل المتداخلة فى المسببات المرضية للـ mycotoxicosis

عموماً فإن تلوث السلسة الغذائية بالسموم الفطرية لها تأثير اقتصادي كبير، وطبيعة كثير من إل mycotoxicoses تجعلها من الصعب تقدير الحدوث والتكاليف حيث أنه بالإضافة الى فقدان المحصول ونقص إنتاجية الحيوانات فإن التكاليف تنشأ من الجهود المبذولة بواسطة المنتجون والموزعون لمواجهة الخسارة الأولية مثل تكاليف

التكنولوجيا المحسنة للإنتاج والتخزين والنقل، و تكاليف اختبارات التحليل خصوصاً للاكتشاف أو التعرف تصبح أكثر جدية، و تكاليف تحسين خطط أخذ العينات. كما يوضع فى الاعتبار كذلك تكاليف التداول والتوزيع، زيادة تكاليف المعاملات والتصنيع، فقدان ثقة المستهلك فى أمان المنتجات الغذائية. السموم الفطرية فى الجرعات العالية قد تكون الجوهر الأولى المسبب لمشاكل صحية حادة فى قطيع اللبن وتكون عامل مشارك للمشاكل المزمنة مثل حدوث أمراض بدرجة عالية، ونقص القدرة الإنتاجية، وإنتاج لبن أقل من المثالى.
عموما تحدث السموم الفطرية تأثيرها من خلال :

١- تقليل الكمية المستهلكة أو رفض الطعام .
٢- تقليل امتصاص المواد الغذائية وضعف التمثيل الغذائى .
٣- تغيير نظام الـ endocrine and exocrine
٤- وقف المناعة .
٥- تغيير النوع الميكروبى .

وتتداخل السموم الفطرية مع عوامل أخرى تجعل من الصعب تقدير المستويات الآمنة لكل السموم الفطرية المنفردة. وتتأثر فاعلية السموم الفطرية بعوامل مثل نوع الحيوان، الجنس (ذكر أو أنثى)، فترة التعرض، الإجهاد البيئى والإنتاج، حيث أن الحيوانات تحت الإجهاد البيئى وضغط الإنتاج قد تظهر أعراضا ظاهرة بدرجة أكبر .

وبطريقة أخرى يمكن تلخيص العوامل المؤثرة على تواجد السموم الفطرية فى سلسلة الطعام كالتالى:

ويمكن تلخيص العوامل المؤثرة على تواجد السموم الفطر في سلسة الطعام كالتالى

العوامل البيولوجيه
محصول حساس
فطر مسبب للسميه

العوامل البيئية
درجة الحراره
الرطوبه
الاصابه الميكانيه
أضرار الاصابه بالحشرات والطيور
الفطر

الحصاد
نضج المحصول
درجه الحراه
الرطوبه
الكشف /التحول

التخزين
درجة الحراره
الرطوبه
الكشف/ التحول

التوزيع -الصنيع
الكشف /التحول

الحيوانات
منتجات حيوانيه
الانسان

السموم الفطرية فى البينات الداخلية :

Mycotoxin in the Indoor Environments

تعتبر المبانى مصدراً آخر للسموم الفطرية، والناس اللذين يعيشون فى مناطق وبها عفن فطرى فقد تزيد فرصة التأثيرات الصحية الخطيرة. يمكن تقسيم العفن الفطرى النامى فى المبانى الى ثلاثة مجاميع هى مستعمرات أولية، ثانوية، وثلاثية. كل مجموعة تصنف بواسطة القدرة على النمو عند نشاط مائى معين، ومن الصعب التعرف على إنتاج السموم الفطرية بواسطة العفن الداخلى نتيجة كثير من العوامل المتغيرة بأن تكون محجوبة كمشتقات أو ليست ثابتة بدرجة كافيه، وفى الحقيقة من المحتمل تنتج ميتابوليت مختلفة على مواد المبنى .

بعض السموم الفطرية فى البيئة الداخلية تنتج بواسطة كل من:

Alternaria, *Aspergillus* (multiple forms), *Penicillium*, and *Stachybotrys*
Stachybotrys chartarum تحتوى عدداً كبيراً من السموم الفطرية عن مسببات العفن الأخرى النامية فى بيئات داخلية وتكون مصحوبة بالحساسية والإلتهابات التنفسية. الإصابة أو العدوى بالـ *S. chartarum* فى المبانى المحتوية ألواح جبس على قرميد السقف شائعة جداً وأصبحت تشكل مشكلة كبيرة، وعلى ذلك يجب التحكم فى الرطوبة والتهوية فى المنازل السكنية والمبانى الأخرى. التأثيرات الصحية السلبية للسموم الفطرية تكون دالة على تركيز وفترة التعرض، وتبين أن جراثيم الـ *Stachybotrys* تسبب نزيف فى الرئة فى الحيوانات عند التركيزات العالية جداً. مركز مكافحة الأمراض فى كليفلاند وأوهايو فى أمريكا عام 1990 وجد ارتباط بين السموم الفطرية من جراثيم الـ *Stachybotrys* مع النزيف الرئوى فى الأطفال. أجريت دراسات فى ولاية ميتشجان فى أمريكا وجد أن تيار الهواء المعرض لـ *S. chartarum* يسبب حساسية والتهابات وسمية الخلايا فى الجهاز التنفسى العلوى والسفلى . وعلى ذلك السموم الفطرية المحمولة هوائياً من المتوقع أن تسبب مخاطر للإنسان المعرض لها باستمرار.

والأعراض تعتمد على نوع الـ mycotoxins، تركيز وطول فترة التعرض، العمر والحالة الصحية والجنس للأفراد المعرضة وكذلك فإن نقص الفيتامينات، إدمان الكحولات لها تأثيرات مركبة مع السموم الفطرية. ومن هنا فإن السموم الفطرية لها تأثير قوى مزمن وحاد على الصحة من خلال تناولها مع الأكل، وتلامس الجلد والاستنشاق. هذه السموم يمكن أن تدخل مجرى الدم والجهاز الليمفاوي وتثبط تخليق البروتين مع زيادة الحساسية.

فى كينيا عام 2004 مات 125 فرداً، وعولج تقريباً 200 فرداً بعد تناول أو أكل الذرة الملوثة بالأفلاتوكسين، وارتبطت معظم الوفيات مع الذرة المحلية والتى لم يتم معاملتها بمبيدات فطرية أو لم تجفف قبل التخزين وكان ذلك نتيجة نقص المواد الغذائية حيث حصد

المزارعون الذرة فى موعد مبكر عن المعتاد لمع السرقات من حقولهم وبالتالى لم يتم نضج الحبوب جيدا، وأصبحت أكثر حساسية للإصابة بالعفن.

الأمراض التى تحدث بواسطة السموم الفطرية فى الحيوانات

Mycotoxicosis in animals

كما هو معروف أن السموم الفطرية Mycotoxins قد تنتج على أحد المبانى، الحبوب، المراعى أو العلف أو قد توجد فى المكونات المستعملة فى صناعة وجبات طعام الحيوانات. بعض وجبات الحيوانات خصوصاً المحتوية حبوب أو مكسرات قد تحتوى أنواع من العفن نتيجة للسموم والتى قد تنتج عدداً من السموم الفطرية التى لها خواص سميه أو علاجيه مختلفة، وفى تلك الظروف فان علامات العلاج أو الضرر فى الأمراض المنتشرة قد لا تتوافق مع وصف الانتشار أو الى الاكتشافات العملية فى الحيوانات التى أخذت جرعات من السموم المعزولة من بيئات تعفن نقيه.

تقسيم السموم الفطريه طبقاً لموضع التأثير:

Classification of Mycotoxins

يتم التقسيم طبقاً لنظام العضو الرئيسى المتأثر إلى:

١- سموم كبديه : Hepatotoxins

- Sporidesmin
- Aflatoxin
- Luteoskyrin
- Cyclochlorotine
- Rubratoxins
- Sterigmatocystin

٢- سموم للجهاز البولى (الكلى) : Nephrotoxins

*Ochratoxin

*Citrinin

٣- سموم عصبيه : Neurotoxins

*Penitrema *Patulin *Citreoviridin

* Misc. neurotoxins

٤- سموم خلويه (سموم القناه الهضميه) Cytotoxins

(Alimentary Tract Toxins)

*Trichothecenes, *T-2 toxin,
*Diacetoxyscripenal, * Neosolaniol,
*Nivalenol , *Diacetylnivalenol
,*Deoxynivalenol (Don, Vomitoxin) ,
*H T -2 toxin, *Fusarenon X

سموم فطريه للهرمون المثير للدوره النزويه :

Estrogenic Mycotoxins

*F-2 toxin (Zearalenone)

٦- سموم فطريه أخرى Other Mycotoxins

*Ergot *Fescue *Lupinosis

الباب الخامس

ميكانيكية التأثير البيوكيميائي للسموم الفطرية وعلاقتها بصحة الإنسان

Biochemical mechanism of mycotoxins action with relation of human health

الباب الخامس

ميكانيكية التأثير البيوكيميائى للسموم الفطرية وعلاقتها بصحة الإنسان

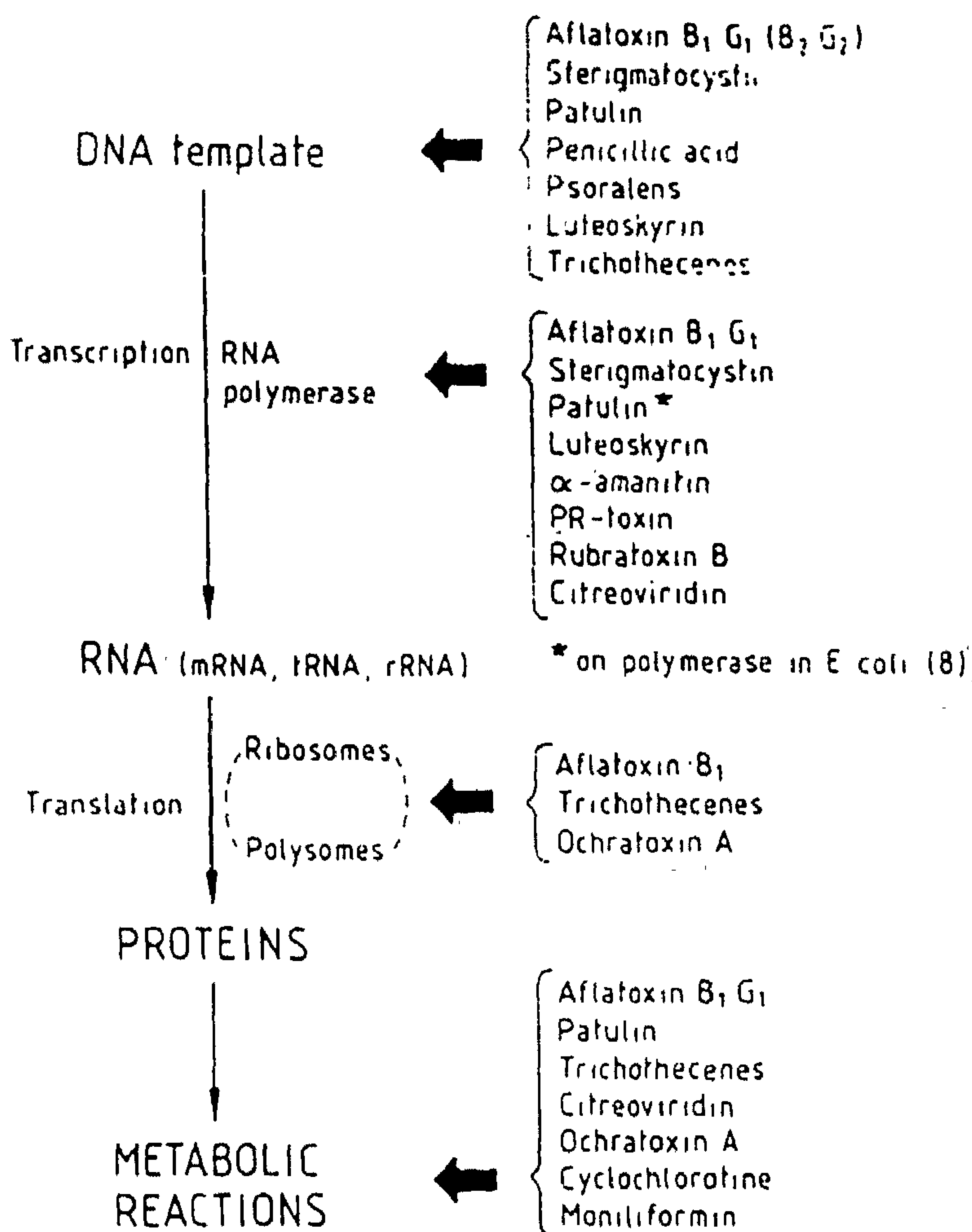
Biochemical mechanism of mycotoxins action with relation of human health

تنوع الأمراض التى تصيب الإنسان والحيوان الراجعة الى السموم الفطرية (micotoxicoses) يرجع إلى تنوع التركيب الكيميائي للسموم الفطرية. التأثيرات البيولوجية للسموم الفطرية تعود الى التغير فى اساس عمليات الميتابولزم. عمليات التأثير المباشر هى: ميتابولزم الكربوهيدرات، وظائف الميتوكوندريا، ميتابولزم الليبيدات والاسترويدات والتخليق الحيوى للبروتين والأحماض النووية.
عن طريق ميكانيكية تأثير السموم الفطرية على هذه العمليات فانه يعطى احتمال تطوير طرق لمكافحة ومنع مشاكل السموم الفطرية.

1- تأثير السموم الفطرية على RNA وتخليق البروتين:

Effects of mycotoxins on RNA and Protein Synthesis:

المواضع الرئيسية لتأثير السموم الفطرية على RNA وتخليق البروتين يمكن توضيحها فى الشكل التالى (Kiessling, 1986):



Mycotoxins affecting major sites in RNA and protein synthesis

شكل (4) مواضع تأثير السموم الفطرية فى RNA وتخليق البروتين

وعلى ذلك فإن ميكانيكية التأثير الأولية للسموم الفطرية قد تكون تعديل الهيكل التركيبى للـ DNA مما يؤدى إلى تلف عملية النسخ transcription أو تثبيط (إيقاف) عملية الـ translation فى تخليق البروتين. فى معظم الأحوال تتفاعل السموم الفطرية مباشره مع

بروتين الإنزيم أو الـ coenzyme وكل هذه العمليات الأولية تؤدى إلى تأثيرات ثانوية فيما يسمى نشاط إنزيمات معدله مما يؤدى إلى تغيير فى النشاط التمثيلى metabolic activation والتنظيم .

أحد التأثيرات الهامة لإعطاء الـ AFB1 لأى حيوان هو خفض فى محتوى RNA وفى RNA polymerase فى نواة الكبد. AFB1 أكثر نشاطاً بثلاث مرات عن AFG1 بينما AFB2 ليس له تأثيرا على الإطلاق. مما يؤكد أن 2,3-unsaturated double bond فى الـ dihydrofuran moiety هامة جداً للنشاط.

2- تأثير السموم الفطرية على مستوى DNA:
Effect of Mycotoxins on DNA Level:

يوجد على الأقل عدد 14 من السموم الفطرى معروفه فى المعمل بأنها مسببات سرطانيه carcinogens مثل :
Aflatoxins, sterigmatocystin, cyclochlorotine, griseofulvin, patulin وفيما عدا cyclochlorotine فان كلها نشطه على مستوى DNA

يوجد نوعان من التداخل الذى يحدث بين الأفلاتوكسين والأحماض النوويه nucleic acids.
النوع الاول من التداخل إرتباط غير تعاونى ضعيف عكسي non-covalent, weak, reversal binding
النوع الثانى من التداخل يكون تعاونياً غير عكسى irreversible covalent binding يلزم لنظام الميتابولزم فى الثدييات.

معظم الأنشطة الوراثية والسرطانية للأفلاتوكسين والمركبات القريبة منها مثل sterigmatocystin لوحظت فى صور منشط تمثيلياً.

الارتباط التعاونى فى صورة رابطة مزدوجة بين C2,C3 تعنى أن كل من AFG1, AFB1 أكثر نشاطا من AFG2, AFB2

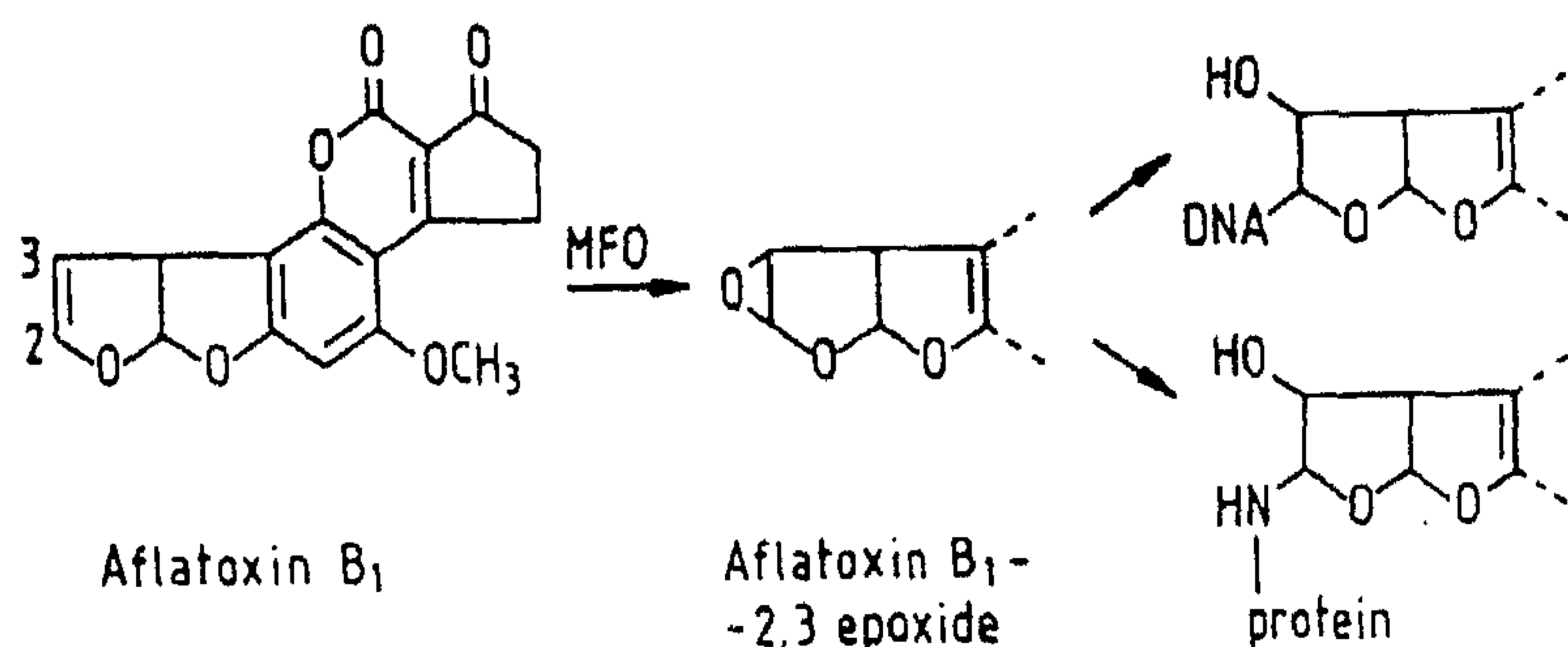


Fig. (5) Metabolic activation of aflatoxin B1 (and G1) by mixed function oxidase (MFO)

إنزيم MFO فى الشبكه الاندوبلازميه فى الكبد يساعد على تكوين 2,3- epoxide of AFB1 . الـ epoxide المتكون يسبب تكوين ناتج إضافة مع الأحماض النووية و البروتينات مما يجعلهم فى صورة غير نشطه حيوياً.

توجد علاقه قويه بين القدرة على إحداث السرطان carcinogencity وإحداث الطفرات الوراثيه mutagenicity ومدى ارتباط DNA التعاونى مع الأفلاتوكسين والميتابوليت الخاص بها . يعتبر الجوانين فى الـ DNA هو الهدف الرئيسى لمهاجمه الأفلاتوكسين المنشطة . تكوين الـ mutations يتم بواسطة الارتباط التعاون إلى DNA والذى يؤدى إلى سرطان.

لقد تم إقرار أن AFB1 يحفز تثبيط تخليق DNA فى Hela cells وذلك يرجع إلى خفض إنتقال الـ thymidine إلى الخليه وليس إلى نقص نشاط هيكل DNA. على أى الأحوال فان الخلايا العادية لا تحتاج إلى Thymidine خارجي ولكنها تخلق الـ thymidine الخاص بها من الـ uridine وأهميه هذا الانتقال للميكانيكية التى بواسطتها الأفلاتوكسين يثبط الـ nucleic acids فى الخلايا العادية.

الأبحاث الحديثة أظهرت أن AFB1 المقدم لحيوانات التجارب يرتبط تعاونياً إلى ميتوكوندريا الكبد بطريقه أكثر فعاليه عنه إلى nuclear. DNA تركيز ناتج الاضافه المسرطن فى mitochondrial DNA تبقى غير متغيره حتى بعد 24 ساعة.

- يوجد تشابه تركيبي بين sterigmatocystin, AFB1 من حيث الأبعاد والشكل الفراغى المطلق لثنائي ثانى هيدروفيوران bisdihydrofuran moiety وبالتالى من المتوقع أن يكون الـ metabolic activation عند نفس الموضع عند الرابطة المزدوجة بين $C_2 - C_3$ فى الـ AFB1 وعلى ذلك فان تثبيط تخليق DNA and RNA يكون أحد الطرق لفعل الـ sterigmatocystin.

* لوحظ تداخل مباشر بين patulin and penicillic acid مع الـ cellular DNA فى نظم خلايا ثدييه وبكتيرية. كسر الشريط الفردى والمزدوج يتم تحفيزه في Hela and mammary carcinoma DNA بواسطة هذين المادتين (DNA ورم سرطان فى الثدييات و Hela) ووجد أن جرعة أكبر رباعيه من كلا المادتين تسبب تأثيرات سرطانية.

* T-2 toxin لم يلاحظ لها تأثير على hepatic DNA ولكنها تحفز كسر شريط فردى فى DNA الخلايا الليمفاوية *in vivo* and *in vitro*. فقدان التأثير على liver DNA قد يرجع إلى وجود إنزيم glutathione transferase فى الـ hepatic cytosol القادر على تحفيز (مساعدة) الارتباط مع trichothecene نظراً لأن الـ epoxides مثل T-2 toxin يتفاعل مع مجاميع SH.

على أى الأحوال بالاضافه T-2 toxin فإن patulin and penicillic acid تسبب كسر single – strand فى الـ DNA.

Effect on Translation level .3

التأثيرات المثبطه على كلا من:
transcriptional and translational level قد تؤدى إلى تثبيط تخليق البروتين وتغيير تالى فى الـ metabolic activity والتنظيم.
trichothecenes يثبط تخليق البروتين، تخليق DNA فى خلايا الـ eukaryotic وعلى الرغم أن تخليق DNA يتم تثبيط بنفس الدرجة مثل تخليق البروتين فان الميكانيكية الأولية للـ trichothecenes هى تحطيم تخليق البروتين.
الرسائل الواثيه المشفرة Genetic messages coded بواسطة RNA يتم ترجمتها بواسطة الريبوسومات ribosomes إلى تركيب البروتين فى ثلاث خطوات هى :
(a) Initiation (b) Elongation (c) Termination

أ- البدايه : Initiation

وجد أن مركبات trichothecenes تثبط تكوين معقد 805 ribosoms أو تثبيط وظيفة الـ intact ribosome. عملية تحطيم الـ polyribosomes هى أحد طرق التأثير الأخرى لهذه المثبطات فى البداية.

ب- الاستطاله Elongation

يتداخل الـ trichothecenes مع مركز إنزيم peptidyl transferase على 605 ribosome مانعاً تكوين الـ peptide bond موقفاً تكرار تكوين هذه الرابطة مما يؤثر على ارتباط amino-acyl-t-RNA مع الـ intact ribosome المساعدة بواسطة هذا الإنزيم والتى تتكرر حتى يتم تكوين سلسله الببتيد peptide chain. وهذا التثبيط يوقف عمليه الـ elongation.

ج- النهاية Termination:

تتداخل الـ trichothecene أيضاً مع مركز إنزيم peptidyl transferase على 605 ribosomal subunit. تمنع أيضاً انفراد الـ polypeptide بواسطة إيقاف عملية التحلل المائى للـ peptidyl – t RNA

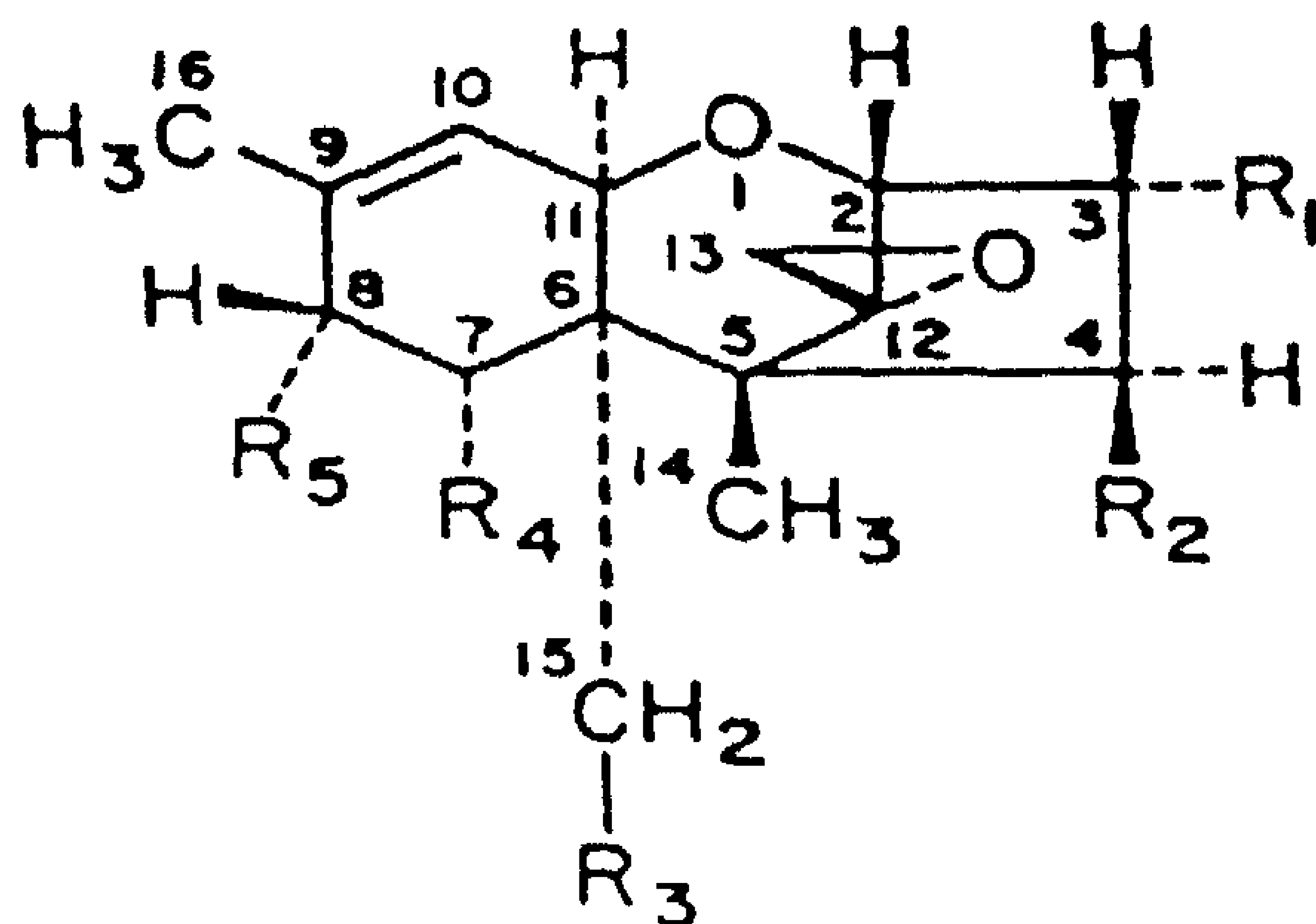
أكثر مشتقات الـ trichothecenes سمية :
verrucarin, diacetoxyscirpenol, T-2 toxin, nivalenol.

وهذه المشتقات تعمل كمثبطات لخطوة البداية من translation بواسطة الارتباط مع الـ 605 ribosome unit وكذلك بواسطة تثبيط نشاط انزيم الـ peptidyl transferase.

ومن ناحية أخرى فإن كل من deoxynivalenol, verrucarol trichothecene, تؤثر على خطوه elongation-termination. تثبيط الـ elongation أو initiation يعتمد على تركيز الـ trichothecenes فمثلا وجد أن diacetoxyscirpenol يثبط الـ initiation بواسطة الجرعة التي تسبب 70% تثبيطاً لتخليق البروتين ولكن تثبيط initiation and elongation يتم عند جرعات أعلى.

سمية الـ trichothecene بصرف النظر عن وجود 12,3- epoxy ring , C9-10 double bond تعتمد على وجه الخصوص على :

- عدد ومواضع مجاميع الهيدروكسيل.
- نوع الأحماض المكونة للاستر esterifying acids.



- فى حالة عدم وجود استبدال عند C_4 يجعل المركب termination inhibitor
- وجود مجموعة استر فقط عند موضع C_4 تجعل المركب elongation inhibitor.
- بوجود مجموعة استر أخرى عند موضع C_{15} تجعل المركب initiation and elongation inhibitor.
- فى حالة وجود مجموعة أستيايل عند C_3 أو C_4 بجانب الاستر عند C_{15} فان االمركب يكون initiation inhibitor.

** وجد أن AFB1 يمنع تجميع الـ polysome بواسطة ميكانيكية تحطيم تخليق البروتين حيث أن الـ monosomes المتكونة معاً ينقصها RNA، peptidyl-t RNA ولكنه يحتوى فقط مستويات منخفضة من t-RN.

*** Ochratoxin A هو أحد السموم الفطرية المؤثرة على مستوى الـ translation level حيث يؤثر بواسطة تحطيم شفره m-RNA إلى إنزيم الـ phosphoenolpyruvate carbokinase فى الكلى kidney.

وجد أن الـ Ochratoxin A قد تؤثر كنظير للـ phenylalanine فيما يتعلق بالـ aminoacylation of t-RNA فى البكتريا. وهذا التفاعل يتم مساعدته بواسطة phenylalanyl-tRNA synthetase وجوهرية لكل الكائنات الحية. ووجد أن قابلية هذا الإنزيم لـ Ochratoxin A حوالى 1/300 منه للـ phenylalanine. وتنتج سميه Ochratoxin A فى الخلايا الحيوانية السليمة بسبب أن أنزيم mammalian synthetase له قابلية عالية لهذا المركب وقابليه منخفضة للفينايل ألانين وكذلك بسبب أن Ochratoxin A والميتابوليت السامة منه تتراكم داخل الخلية.

4-التأثير على ميتابولزم الكربوهيدات :
Effect of carbohydrate metabolism :

تأثير السموم الفطرية على ميتابولزم الكربوهيدرات تتضح كاختزال الجليكوجين الكبدى وزيادة مستويات جلوكوز الدم. والسموم الفطرية التى تسبب تلك التأثيرات هى:

Aflatoxins, ochratoxin A, rubratoxin B, cyclochlorotine, citreoviridine.

وجد أن aflatoxin B1, cyclochlorotine, citreoiridine تقلل مستوى الجليكوجين الكبدى بواسطة تثبيط إنزيمات التخليق الحيوى مثل glycogen synthetase وبواسطة زيادة نشاط الإنزيمات التى تؤدى الى تمثيل الجليكوجين metablizing glycogen precursors وهو :

NADP-reducing enzyme glucose-6-phosphate dehydrogenase

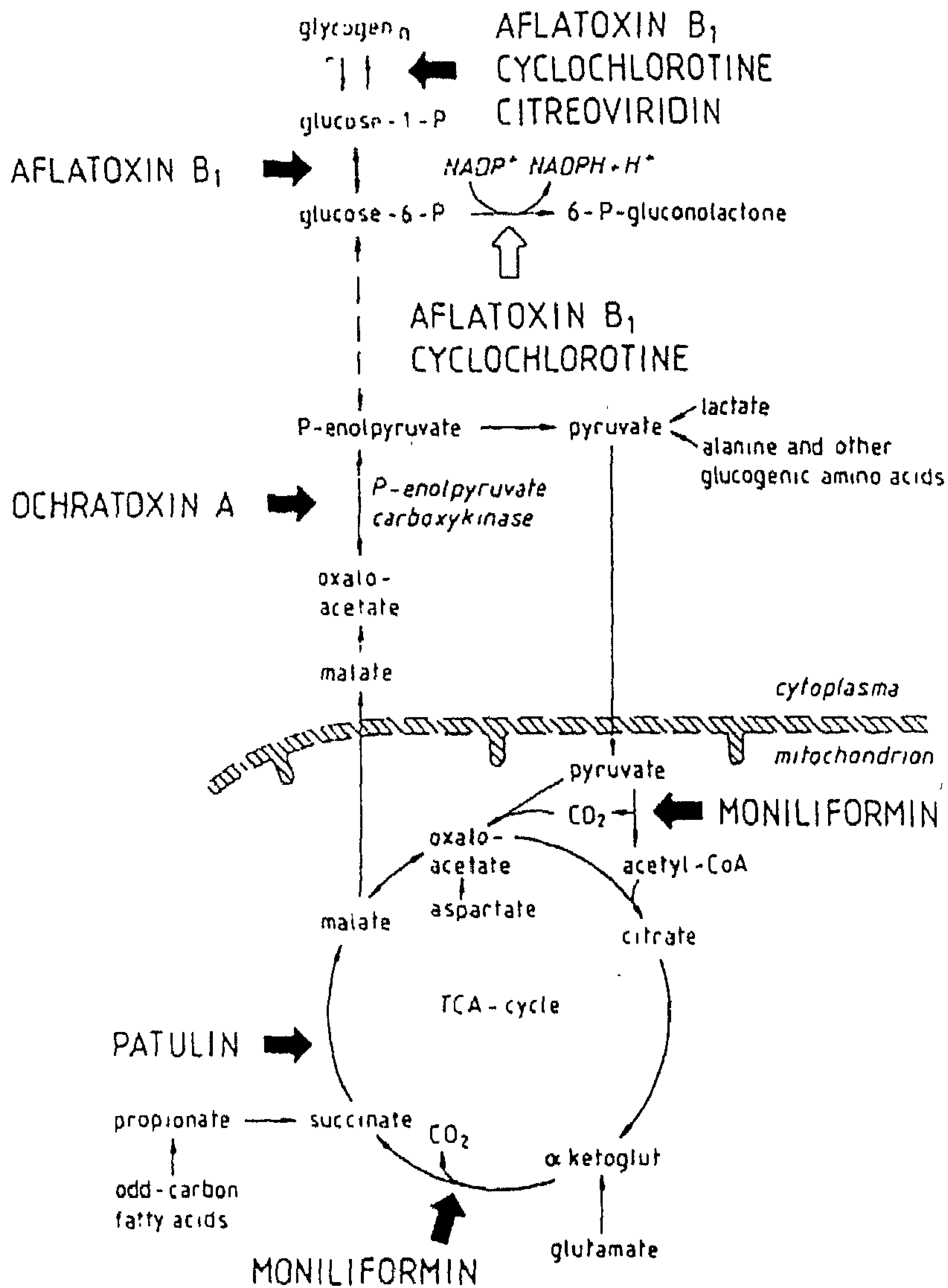
وفى دراسات أخرى كان يحقن 2.7mg AFB1 لكتاكيت ذو عمر يوم واحد لوحظ أنه بجانب التأثيرات السابق ذكرها وجد أيضاً أنها تقلل نشاط كل من :

1) Glycogen phosphorylase.
2)Phosphoglucomutase,
3) Glucose – 6 – phosphatase.

ووجد أن كل من الأنزيمين (1)،(2) تساعد على تحطيم الجليكوجين ،أما الإنزيم الثالث يساعد على إزالة المركب :
.glucose-6-phosphate

Ochratoxin A هو السم الفطرى الآخر الذى يقلل جليكوجين الكبد كما وجد أن هذا المركب يثبط تنافسياً ارتباط cAMP مع الـ bovine receptor protein ولكن فقط عند التركيزات العالية جداً.

الشكل التالي شكل (6) يوضح مواضع تداخل السموم الفطرية مع Carbohydrate metabolism :



:Aflatoxin B1 and Cyclochorotine

يثبط تخليق الجليكوجين بواسطة خفض أنشطة كل من انزيمى glycogen sythetase and transglycosylase وهى الإنزيمات التى تساعد عملية استطالة وإعادة تنظيم جزئ الجليكوجين.

- مركب citreoviridine يثبط انزيم glycogen synthetase.
- AFB1 يقلل نشاط انزيم phosphoglucomutase الذى يحول طرديا عكسيا glucose-6-phosphate إلى glucose-1-phosphate.

- AFB1 ، cyclochlorotine تقلل الجليكوجين الكبدى بواسطة إسراع أكسدة glucose-6-phosphate.

- Ochratoxin A يثبط تخليق انزيم :
phosphoenolpyruvote carboxykinase وهو الإنزيم الذى يحول الـ oxaloacetate إلى phosphoenol pyruvate.

- Moniliformin يثبط إزالة الكربوكسيل المؤكسدة لكل من : α-keto acid pyruvate and α-Ketoglutarate.
وفى دراسات أخرى وجد أن تأثير Ochratoxin A يحدث بواسطة نقص فى تركيز mRNA المشفر لأنزيم phosphoenolpyruvate carboxykinase فى الكلية بالاضافه إلى تثبيط الأنزيم نفسه. وبذلك يكون هذا المركب سام للكلى nephrotoxin .

* بعض الـ trichothecenes تتفاعل مع البروتينات حيث وجد أن كل من fusarenon-x, neosolaniol, T-2 toxin تثبط الإنزيمات المحتوية مجموعه ثيول thiol مثل lactate dehydrogenase وذلك بواسطة التفاعل مع مجاميع السلفاهيدريل.

٥-التأثير على ميتابولزم الليبيدات :

Effect on Lipid Metabolism:

يتأثر ميتابولزم الدهون بواسطة عدد كبير من السموم الفطرية مثل:
Aflatoxins, ochratoxin A, citrinin, luteoskyrin, trichothecenes, penitrem A, rubratoxin B.

كل هذه المركبات تسبب تراكم دهون الكبد. أظهرت الدراسات أن أفلاتوكسين يسبب هذا التأثير بواسطة زيادة مستوى NADPH الخلوى اللازم لتخليق الأحماض الدهنيه فى الكبد كما وجد أن كل من aflatoxin and luteoskyrin يثبط الـ triglyceride and phospholipids transport مسببا كبد دهنى fatty liver.

٦- التأثير على الأكسدة الفوسفورية وبعض وظائف الميتوكوندريا:

Effects on oxidative phosphorylation and other mitochondrial function :

* AFB1 تؤثر على نقل الإلكترون فى الميتوكونديا وموضع التأثير يكون بين cytochrome b and c.

وفى دراسات أظهرت أن كل من AFM1, AFB1 تعمل uncouplers of oxidative phsphorylation (فصل عمليات الأكسده والفسفرة) كما أظهرت الدراسات أن AFB1 مثبط لنقل الإلكترون عند مستوى cytochrome oxidase.

- وجد أن كثير من السموم الفطرية تعمل فى صورة
- Inhibitors of mitochondrial respiration.
- Inhibitors of various ATPases.

٧- التأثيرات الهرمونيه: Hormonal Effects

Zearalenone بالإضافة إلى الميتابوليت zearalenol α and β تعتبر estrogen (هرمون للدورة النزويه) حقيقى بأنها تشجع الدورة النزويه فى الـ adult mice وهذه الظاهرة التي تم تحفيزها بواسطة Zearalenone فى الحيوانات كان متناغماً مع التأثيرات الناتجه بواسطة الهرمونات الاستيرويدية diethylstilbestrol or steroidal estrogen.

ويعتبر ارتباط Zearalenone مع الـ estrogen receptors يكون ارتباطاً بالتخصص فيما يتعلق بالتركيب ويسمح لمشتقات:
17β-estradiol للتنافس مع 6'- ketone and 6'- hydroxyl عند مواضع الاستقبال receptor sites

Zearalenone يتحول بسرعة إلى α- and β- Zearalenol بواسطة إنزيمات 3α- hydroxysteroid dehydrogenases في الكبد.

ووجد أن zearalenone يثبط تنافسيا إنزيمات 3α, 3β-hydroxysteroid dehydrogenase اللازم لتحويل 5α-dilydrotestosterone الى 5α-androstanediols في غده البروستاتا في الإنسان.

الباب السادس

مسببات السموم الفطرية

Mycotoxigenic

الباب السادس

مسببات السموم الفطرية
Mycotoxigenic

أولا : أنواع الفيوزاريوم المسببة للسموم الفطرية:

Mycotoxigenic species of *Fusarium*:
الفيوزاريوم هو أحد الأجناس الهامة من الفطريات الممرضة للنبات بإصابات مدمره لكثير من النباتات الهامة اقتصاديا. أنواع الفيوزاريوم مسئولة عن الذبول، عفن الجذور فى البقوليات، أشجار الصنوبر والقمح والذرة والتجليات. الفيوزاريوم قد يحدث الإصابه فى البذور أثناء نموها ونضجها خصوصاً فى محاصيل الحبوب وكذلك الفاكهه والخضروات الناضجة، ويوجد وسيط كامن لانتاج الـ toxins فى الطعام. وظل دور عائلة الفيوزاريوم *Fusaria* فى إنتاج الـ mycotoxins غير متوقع حتى عام 1970، وثبت دور الـ *Fusaria* فى إحداث مرض alimentary toxic aleukia (ATA) وهو أحد الأمراض الوبائية التى تصيب الإنسان بالسموم الفطرية human mycotoxicoses epidemic فى روسيا والتى قتل مائة ألف من الناس فيما بين 1942 – 1948 .
الأبحاث منذ عام 1970 أظهرت أن أنواع الفيوزاريوم قادرة على إنتاج أنواع مذهلة من السموم الفطرية منها فى المقام الأول trichothecenes والمعروف منها على الأقل 50 مركب ومعظمه ينتج بواسطة *Fusaria* أكثرها خطورة هو T – 2 toxins والمسئول عن ATA. يوجد بعض السموم الفطرية الأخرى من الفيوزاريوم عالية السمية للحيوانات ويظن أنها المسئولة عن أمراض الإنسان الحادة والمزمنة. وهناك أربعة أنوع هامة من وجهة نظر صحة الانسان هى :
Fusarium sporotrichioides, F. equiseti, F. graminerarum and F. moniliorme .

١ – وجد أن trichothecenes من السموم الرئيسية التى تنتج بواسطة الـ *Fusaria* وهو من مجموعة sesquiterpenes له نظام 12 , 13 – epoxytrichothec – 9 – ene ring وقد ينتج trichothecenes فى صورة مخلوط فى ظروف بيئيه نقيه ويكون من الصعب فصلهم . كانت قيم LD_{50} لـ T – 2 toxin بمعدل 4 – 8 mg / kg فى الفئران والخنازير، الـ LD_{50} للمركب deoxynivlenol الأقل سمية كانت 70 mg / kg فى الـ mice، على الأحوال وجود 5 mg / kg فى الغذاء يسبب قىء فى الخنازير.
الأساس البيوكيميائى لسمية الـ trichothecene هو تثبيط غير تنافسى لتخليق البروتين. واقترح أن المركب يهاجم بداية تخليق البروتين أو يثبط التمدد والنهاية. وكانت الأعراض التى تحدث بسرعة عبارة عن قىء، إسهال، فقدان الشهية والتهاب فى المعدة . ولكن هناك أعراض تظهر أقل سرعة مثل الموت الموضعى لأنسجة الجلد ، نقص فى كرات الدم البيضاء leukpenia، عدم القدره على تنسيق الحركات العضلية الاراديه ، نزيف فى الأنسجة العضلية، تحلل فى الخلايا العصبيه وقد يحدث الموت نتيجة الحقن أو تناوله مع الطعام أو التطبيق السطحى، وبناء على أن الأفلاتوكسين تسبب سرطان الكبد فإن trichothecenes هو أكبر سم فطرى يهدد صحة الإنسان والحيوانات نتيجة كثرة الأعراض المختلفة .

٢ – بعض السموم الفطرية الأخرى التىتنتج بواسطة *Fusarium* species مثل zearalenone وهو هرمون estrogen بالإضافة أنه سم فطرى حقيقى .
- مركب moniliform عبارة عن مركب حلقى من أربعة ذرات كربون .
- fusaric acid وهو phytotoxin متواجد فى أمراض النبات .
- fumoinisin B هو أحد السموم المعزولة من فطر *F. moniliorme* ، ومعظم سموم الفيوزاريوم لها سمية حادة وبعضها مسببا سرطان للإنسان .

- fumonis B عبارة عن جزىء يسبب leucoencephalomalasia وهو مرض يصيب المخ فى الخيول ، ويحفز الاصابه بسرطان الكبد ، ويسبب سرطان المرىء .
عموماً الـ *Fusarium* species أحد مسببات أمراض النبات ويكون مرتبطا مع النباتات والتربة الزراعية وينمو فى المحاصيل قبل حصادها ، وينمو فقط عند مستوى عالى من الماء ولذلك فإن السموم الفطرية تنتج قبل أو بعد الحصاد مباشرة .

Fusarium sporotrichioides

يسبب أمراضاً حيوانية خطيرة وذلك من التسمم الخطير للحبوب وقشرة حبوب الفاصوليا فى اليابان ، ويسبب عفن الذرة فى الولايات المتحدة الأمريكية . وهذا الفطر يفرز T – 2 toxin بالإضافة الى بعض العزلات المعروفة بإنتاج :

butenolide , fusarenon – X , neosolaniol and nivalenol

كما يوجد بدرجة أقل كل من :

zearalenone , deoxynivalenol , trichothecenes

ويعتمد نموذج السمية بواسطة عزلات هذه الأنواع على الإنتاج النسبى لتلك السموم المختلفة. ويعتبر T – 2 toxin أهم السموم الغذائية للإنسان والتى تنتج من تناول حبوب عفنه مصابه بفطر *F.sporotrichichioids* وأعراض السمية كما سبق وصفها ويوجد هذا الفطر فى المناطق المعتله على محاصيل الحبوب على الرغم أنه تم عزله من كل من الفول السودانى وفول الصويا.

Fusarium equieti

هو أحد أمراض النبات المنتشرة بدرجه كبيرة Soil saprophyte ومرتبط بأمراض. الحيوان وأحد مسببات human leukemia (مرض ابيضاض الدم) .

فطر الـ *Fusarium equieti* ينتج سموم فطريه تشمل :
nivalenol, fusarenon – X , T – 2, diacetoxyscirpenol, butenolide , zearalenone

وقد ثبت ارتباط الفطر *F. equieti* مع ابيضاض الدم واقترح أن diacetoxyscirpenol هو المسبب المحتمل . تم عزل هذا الفطر من غبار المنازل فى الولايات المتحدة الأمريكية عندما أصيب شخصان بالـ leukemia والمادة المتعزولة كانت قادرة على خفض المناعه فى الخنازير، ثبت أيضاً ارتباط ذلك الفطر بالأمراض الحيوانيه مثل مرض degnala وهو مرض يصيب الجاموس التى تتغذى على قش الأرز المصاب، وقشر الفاصوليا المسمم للخيول فى اليابان، وكذلك يسبب الإصابه الغضروفية، ومرض العظام فى الحيوانات الداجنه .

أعراض السميه بواسطة *F. equieti* تعكس الطبيعة الكامنة للـ trichothecene toxicoses وكمية السموم الناتجة بواسطة نوع واحد ونسبة كل toxin متكون تحت تأثير نشاط مادة التفاعل ودرجة الحرارة والماء، وتم عزل هذا الفطر من أنواع مختلفة من الحبوب المصابة والسموم الناتجة من هذه الحبوب تستهلك فى غذاء الإنسان فى كثير من الأماكن من لوقت لآخر مما يسبب مدى كبير من الأمراض للحيوانات. فطر *F. equiseta* يصيب التربه على مستوى العالم ويمتد من ألاسكا إلى المناطق الاستوائية وتم فصله أيضاً من أصناف عديده من النباتات حيث يسبب عفن للسيقان والجذور على وجه الخصوص ولقد تم فصله من حبوب المحاصيل مثل الذر والشعير.

Fusarium graminearum

هذا الفطر يسبب أعراض الهرمون المسبب للدورة النزويه. estrogenic syndromes، ويسبب أعراض رفض الغذاء والقيء فى الخنازير وبعض الحيوانات الأخرى، كما يسبب سَمية للإنسان مشابهة للناتج من الحبوب المصابة .
السموم الأساسية التى تنتج بواسطة *F. graminearum* هى :

Deoxynivalenol (DON or vomitoxin) , nivalenol , zearalenone

وكذلك يوجد الآتى ولكن تكرار وجودها يكون أقل :

Diacetoxyscirpenol , fusarenon – X and butenolide

أما إنتاج 2 – T كان غير ثابتاً .

وجد أنه يمكن فصل كميات بالجرام من الـ DON الذى يسبب قئ ورفض الغذاء فى الخنازير عند مستوى يقرب من 5mg/kg فى الغذاء.

التأثير الهرمونى المسبب للدورة النزويه بواسطة المركب zearalenone فى الحيوانات كأعراض معروفه، أما حبوب الذره، الشعير والقمح المصابة بالفطر *F.graminearum* والمنتجة zearalenone تسبب مشاكل تناسليه فى الحيوانات المنزلية خصوصاً فى الخنازير، والأعراض تشمل عسر التنفس، الاستسقاء. تتكون أورام فى الاعضاء التناسلية فى الخنازير الصغيرة، مع حدوث مشاكل وتلف فى الجهاز التناسلى تشمل عدم الخصوبة، امتصاص الأجنه أو جفافها وعفنها mummification، إجهاض، انخفاض حجم المواليد، ولقد تأثر أيضا ذكور الخنازير عن طريق ضمور الخصيات ونقص فى الشهوة الجنسية .

ولقد ظهر فى اليابان مرض فطرى يسمى akakabi – byo (مرض العفن الأحمر) وذلك نتيجة وجود فطر *F.graminearum* على القمح والشعير، الشوفان والأرز، والأعراض تشمل فقدان الشهيه، غثيان، القئ، الصداع، آلام فى البطن وإسهال وتشنج.

وتدخل الميتابوليت الناتجة الى وجبات الإنسان من خلال استهلاك الحبوب المصابة. ولقد وجد أيضاً أن كلا من Deoxynivalenol, nivalenol, zearalenone تم فصلها من الذرة ودقيق الذره ومنتجات الذرة الأخرى والقمح المصابة بالفطر في الولايات المتحدة وكندا وأفريقيا.

وفطر *F.graminearum* كأحد أمراض النبات خاصة القمح يسبب عفن تاجى عند قاعدة الساق وعفن فى الحبوب النامية. ويسبب أيضاً عفن من قوالح الذرة .

Fusarium moniliforme

ولقد تم التعرف على أكثر من نوع على الذره وله علاقة بمرض الإنسان والحيوان. وتم إقرار أن المرض الحيوانى الوحيد بسبب *F.moniliforme* هو المرض الذى يصيب الخيول يسمى leukoencephalomalacia (LEM) وهو مرض يصيب المخ فى الخيول، وظهر هذا المرض مبكراً فى الولايات المتحدة الأمريكية عام 1850 وبصورة وبائيه بين مئات أو آلاف من الخيول عام 1900، 1930 وحتى 1979، ولقد ظهر أيضاً فى عدد من الدول مثل الأرجنتين، الصين، مصر وجنوب إفريقيا .

واقترح أن فطر *F. moniliforma* يسبب عدد آخر من الأمراض الحيوانية مثل تسمم للخيول فى اليابان نمو غير طبيعى للعظام أو مرض الكساح فى الدواجن والخنازير فى الولايات المتحدة الأمريكية وفرنسا وألمانيا والسموم toxicosis الراجعة إلى تعفن البطاطا فى الولايات المتحدة الأمريكية.

المعدل العالى لحدوث سرطان المرئ فى الإنسان human esophageal cancer فى جنوب أفريقيا كان مصحوباً باستهلاك الذرة وربما كذلك بالفطر *F. moniliforme* وأهم السموم الناتجة بواسطة هذا الفطر هو fumonisin B وهذا المركب عبارة عن جزئ يتكون من سلسلة أليفاتيه عددها 20 ذره كربون متفرع منها مجموعة إستر محبه للماء.

فطر *F. moniliforme* النامى فى الذرة عرف بأنه المسئول عن مرض LEM (مرض يصيب المخ فى الخيول) وهذا المرض سبب مشكله خطيرة فى الولايات المتحدة الأمريكية فى حزام الذرة لمدة 100 سنه وسبب موت آلاف من الخيول ولقد ثبت حديثا أن الـ fumonisin من السموم المسئوله عن LEM.

تأثير الـ fumonisins على الانسان غير معروف ولكن الحقيقة أن fumonisin B يحفز السرطان فى الفئران, وقد اقترح أن له دوراً فى سرطان المرئ فى الإنسان . ولقد وجد أن الذرة هو الغذاء الرئيسى حيث كان سرطان المرئ وبائياً. ولقد كان الاختلاف الرئيسى بين مناطق حدوث الاصابه العالية والمنخفضة ترجع إلى

الاصابه العالية للذره بواسطة *F. moniliforme* وعموماً فان اكتشاف fumonisins يفسر دور هذا الفطر فى سرطان المرئ فى الإنسان.
ولقد تم عزل من هذا الفطر مركبات أخرى بكميات قليله مثل moniliformin المعروف بسميته وكذلك بعض المركبات التى تتفاوت فى سميتها مثل:

fusaric acid, fusarins, and fusariocins

ولقد تم تسجيل إنتاج :

.T – 2 Toxin, diacetoxyscirpenol and zearalenone

عموما فان السمية المعروفة لفطر *F. moniliforme* لعدد كبير من الحيوانات ودوره فى سرطان المرئ فى الإنسان يرجع أساساً إلى أكتشاف fuomonisins .
وجد أن أعراض التسمم بواسطة فطر *F. moniliforme* يختلف تبعاً لنوع الحيوان والجرعة والمادة السامة الفطرية المعزولة منه. والمرض الناتج بواسطة الفطر هو LEM الذى يسبب ضرر موضعى مع تحلل المادة البيضاء فى مخ الخيول، وظهور سميه عصبيه مع فقدان التحكم فى العضلات مما يؤدى إلى المشي بلا هدف يتبعه الموت والذى يحدث بعد حوالى أسبوعين من تناول المادة السامة في الغذاء. ووجد ان سموم الفطر *F. moniliforme* تسبب قصور فى القلب فى حيوان الـ baboons وكذلك كانت الدجاج والبط خساسة جداً للغذاء المحتوى *F.moniliforme* وان المادة السامة المسئولة هى moniliformin. ولقد تميزت أعراض سميه أحد المركبات المعزوله من هذا الفطر فى الفئران باحداث تليف كبدى وجلطه فى القلب وتشوه فى الأنسجه. ووجد 15 عزله مميته من 20 بينما 5 عزلات كانت غير سامه. وكان الفطر *F.moniliforme* يسبب نمو العظام بدرجه شاذة وأمراض مثل الكساح فى الدجاج وأحيانا بنسبه موت عاليه، المرض الرئيسى الذى يصيب الإنسان المرتبط بفطر *F. moniliforme* هو سرطان المرئ. عموماً فطر *F. moniliforme* يسبب عفن سيقان وقوالح الذرة وأمراض فى الأرز والذرة الرفيعة وقصب السكر.

ثانياً : أنواع فطر أسبرجيلس المسببه للسموم الفطريه :
Mycotoxigenic species of *Aspergillus*:

Aspergillus species موجودة بدرجة كبيره فى البيئة خصوصاً فى التربة والنموات الخضرية التالفه ولكن عدد من الأنواع مرتبطاً بدرجة كبيره بطعام الانسان خصوصاً الحبوب والمكسرات. معظم الأنواع تنمو فى الجفاف xerophilic ولها القدرة على إتلاف الطعام فى حدود رطوبة آمنه وأكثر الأنواع المنتجة للسموم mycotoxigenic هى:

Aspergillus flavus and A. parasiticus التى تنتج aflatoxins، *A. ochraceus* ينتج ochratoxin، أما *A. versicolor* ينتج sterigmatocystin.

كل من *A. flavus and A. parasiticus* مرتبطة بدرجة كبيره مع فطريات *A. oryzee and A. sojae* والتى تعتبر هامه فى صناعة الطعام المختمرة فى أسيا ولكنها لا تنتج aflatoxin

فطريات *A.flavus and A. parasiticus* تنتج أفلاتوكسين فقط فى الطبيعة ويوجد أربعة أفلاتوكسين منتجة طبيعياً هى aflatoxins B1,B2,G1 and G2 الرموز B and G ترجع الى الألوان الزرقاء والخضراء الفلورسنتى التى تظهر تحت ضوء الـ U.V على TLC plates والأرقام 1، 2 توضح المركبات الكثيرة والقليلة بالترتيب.

عند وجود aflatoxins B1 and B2 فى لبن البقر فإن حوالى 1.5% يحدث له إضافة هيدروكسيل ويفرز فى اللبن فى صورة aflatoxins M1 and M2 ذو السمية المنخفضة عن الجزيئات الأساسية ولكن بدرجه معنوية بسبب كثره استهلاك لبن الأبقار بواسطة الأطفال.

والافلاتوكسين لها سميه حادة ومزمنة للحيوانات والإنسان حيث تسبب أربعة تأثيرات ملحوظه: ضرر حاد بالكبد، تليف الكبد، تحفيز حدوث أورام، تأثيرات تشوهيه teratogenic effects.

والسمية الحادة للأفلاتوكسين على الإنسان لوحظت فى عام 1967 حيث أن 26 فرداً من تايوان فى مجتمعات زراعيه أصبحوا مرضى بالقسم الغذائى ظاهرياً وكان منهم 19 طفلا حياً ومات ثلاثة أطفال . الأرز المتأثر كان أخضر مسود وعفن، وكانت عينات الأرز المتعفنة تحتوى حوالى 200 ug / kg من أفلاتوكسين B_1 ومن المحتمل أنه كان المسئول عن انتشار الاصابه .
فى عام 1974 انتشر الفشل الكبدى hepatitis بين 400 هندياً ومات منهم 100 فرد ناتجاً تقريباً من الأفلاتوكسين ولقد وجد أن هذا راجعاً الى تلوث الذرة بالفطر *A. flavus* والذى يحتوى حتى 15 ملجم/كجم أفلاتوكسين ووجد أن السم الفطرى المستهلك بواسطة الأفراد البالغون المتأثرون كان يصل 2-6 ملجم فى اليوم للفرد ويمكن بذلك استنتاج أن الجرعة الحادة المميتة للإنسان البالغ بحسب الوزن تصل إلى 10 ملجم .
Kuroshiorker وهو المرض الذى يصيب الأطفال فى جنوب أفريقيا وأماكن أخرى وفى العادة يرجع الى النقص الغذائى ولكنه قد يعود أيضاً إلى كميه الافلاتوكسين المتواجدة فى الطعام. والأفلاتوكسين المحفزة لضرر الكبد قد تجعل الأطفال المصابة بمرض Kuroshiorker أقل قدره على استيعاب الوجبات الغنية بالبروتين الموصى بها فى العادة لعلاج هذا المرض.
aflatoxin B_1 ثبت وجوده فى حيوانات مختلفة كمسبب قوى جداً لسرطان الكبد ووجد أن سرطان الكبد فى الإنسان منتشراً فى وسط أفريقيا وجنوب شرق أسيا وهناك ارتباطا بين سرطان الكبد فى الإنسان والافلاتوكسين. التعرض السابق أو فى نفس الوقت لفيروس الفشل الكبدى hepatitis B قد يكون متطلباً أساسيا لحدوث سرطان الكبد فى الانسان، وهذا يظهر أن كل من أفلاتوكسن، hepatitis B هى مسببات سرطانية ومن المحتمل أن ينتشر سرطان الكبد فى الإنسان بدرجة عاليه فى المناطق التى يكون فيها كلا من

أفلاتوكسين، hepatitis B سائدين، ولقد تميز انتشار المرض بأعراض. مثل شعور بالأرق مع ظهور سريع لتجمعات سائله وارتفاع فى الضغط وذلك مع وجود مصادر السموم فى الغذاء، على أى الأحوال فان تناول أفلاتوكسين فى الطعام بمستويات منخفضة يكون ضرورياً لحدوث سرطان الكبد وتكون الأعراض غير ملحوظة ويحتاج فترة تحفيز طويله.

فطر *A. flavus* موجود فى الطبيعة فى كل مكان وقت ووجد أن الأفلاتوكسين أكثر انتشاراً نتيجة توالد الفطر فى الغذاء معطياً أهميته الطبية والاقتصادية، أما فطر *A. parasiticus* أقل شيوعاً ولكن مدى وجوده غير واضح بواسطة الاتجاه لتسجيل *A. parasiticus* , *A.flavus* كانه *A .flavus* فقط.

وهذان الفطران لهما قابليه للـ nuts and oil seeds ويعتبر الفول السودانى والذرة وبذور القطن اكثر المحاصيل إصابة بواسطة *A. flavus* وافترض فى أول الأمر أن هذه الاصابه قد ترجع إلى التجفيف أو التخزين غير المناسب مما يؤدى إلى تواجد الأفلاتوكسن فى المناطق الاستوائية الرطبة ولكن بعض الدراسات الحديثة أقرت أن فطر *A. flavus* يغزو تلك المحاصيل قبل حصادها.

إصابة الذره قبل الحصاد تعتمد على الاصابه الحشرية فى القوالح النامية، والفطريات تصيب أسفل شعيرات كوز الذرة وأسفل القوالح، وقد يغزو كيزان الذره النامية . كذلك محاصيل الحبوب تعتبر شائعة لنمو فطر الـ *A. flavus* وتتلف بواسطة الفطر، ويتواجد الفطر أيضاً فى التوابل. على أى الأحوال فى الدول النامية تستخدم التصنيف وصرامة الإجراءات وطرق التنظيف لتقليل الأفلاتوكسين الى أقل المستويات فى الطعام وبأقل ضرر ملحوظ .

Aspergillus ochraceus هذا الفطر يرتبط بالأنواع المنتجة ochratoxin A مثل الفطريات *A. alliaceus , A. melleus , A. scleotiorum and A. sulphureus* ولكن *A. ochraceus* هو الأكثر تواجداً.

والسم الناتج بواسطة هذه الفطريات هو Ochratoxin A وينتج أيضا بواسطة الفطر *Penicillium verrrucosum* .

ووجد أيضاً أن الفطر *A.ochraceus* ينتج penicillic acid وهو سم فطرى منخفض السمية.

وأعراض السمية الناتجة بواسطة ochratoxin A تمت مناقشته مع فطر *P.verrucosum*. أما الـ penicillic acid فانه مسبب لسرطان الكبد فى بعض الحيوانات وقد يؤثر أيضاً على القلب.

التواجد الطبيعى لفطر *A.ochraceus* وأنواعه الأخرى يكون فى المواد الخضراء والبذور والفاكهة الجافة او التالفة، وينتشر هذا الفطر بدرجه كبيره فى الأغذية خصوصاً الأغذية الجافة مثل أنواع مختلفة من الفاصوليا، الفاكهة الجافة واللحوم المقددة والأسماك المملحة وكذلك فى المكسرات والفول السودانى والبيكان. ولقد تم عزل هذا الفطر من مدى واسع من محاصيل الحبوب مثل الشعير والقمح والدقيق والأرز.

Aspergillus versicolor ينمو بمستعمرات لونها أخضر ويوجد نوع قريب منه هو *A. sydowii* له كثير من الخواص ولكن مستعمراته الطيفية لونها أزرق بالإضافة الى أخضر رمادى.

السم الفطرى Sterigmatocystin ينتج بواسطة عدة فطريات مختلفه، ولكن كان أهمها *A.versicolor* وهذا المركب قدد يتكون منه أفلاتوكسينات ولكن سميته الحادة عن طريق الفم كانت منخفضة بسبب ذوبانه المنخفض فى الماء أو العصارة المعدية. وعلى ذلك فإن هذا المركب من غير المحتمل يكون مسئولاً عن السمية الحادة فى الإنسان أو الحيوانات المتزاوجه ونتيجة هذا الذوبان فإن الجرعات التي تصل الحيوانات تمتص بأقل مدى .
ولقد وجد أن LD_{50} تتراوح بين 60 to 800 mg/kg b.w وعلى أى الأحوال فان الجرعات المنخفضة تسبب تغيرات ممرضه للكبد فى الفئران.
ومن ناحية التسبب فى سرطان الكبد فإن المركب sterigmatocystin أظهر قوة 150/1 من قوة aflatoxin B_1 ولكنه ظل أكبر قوة من بعض المركبات المعروفة كمسببات لسرطان

الكبد. وجد أن المستويات 15µg/day تغذية مستمرة أو جزئيا 10 mg فردية سببت سرطان الكبد فى 30% أو أكثر فى ذكور الفئران ولقد ثبت أن هذا المركب له قوة إحداث سرطان الكبد فى الانسان.

ويتواجد فطر *A.versicolor* عند الحصاد فى بعض المحاصيل مثل القمح ولكنه تم عزله بدرجة كبيره من المواد المخزنة مثل القمح والذرة والدقيق والأرز وبعض المكسرات واللحوم المخمرة والمقددة وبعض أنواع الجبن.

ثالثاً : أنواع فطربنيسيليوم المسببة للسموم الفطرية :
Mycotoxigenic species of *Penicillium* :

أكبر جنس به 150 نوع معروف منها 50 نوع أكثر تواجداً، تنمو وتكون الجراثيم على بيئات صناعية وشبه صناعية.
أنواع الـ *Penicillium* المنتجه للسموم فى الغذاء كالآتى :

المركبات الناتجه	نوع الفطر ..
Citreoviridin	**P. citreonigrum*
Citrinin	**P.citrinum*
penitrem A	*P. crustosum*
cyclochlorotine, islanditoxin, luteoskyrin and erythroskyrin	*P. islandicum*
ochratoxin	*P. verrucosum*

Penicillium citreonigrum

المرض المعروف باسم برى برى beriberi كمرض غذائى راجع لنقص الفيتامينات وهذا المرض أكثر من مرض فردى واحد أشكاله فى اليابان المعروف بـ acute cardiac beriberi وتم تعريفه بأنه mycotoxicosis ولقد وجد أن الأرز الأصفر المصاب بالغفن هو السبب المحتمل لمرض برى برى القلب الحاد، وهذا المرض إختفى تدريجاً من اليابان.

ولقد أظهر بعض الباحثين أن مرض acute cardiac beriberi يرجع إلى نمو فطر *P. citreonigrum* والـ mycotoxin المسئول هو citreoviridin.

وأصبح مرض acute cardiac beriberi تاريخيا فقط. ووجد أيضا أن citreoviridin ينتج بواسطة الفطر *P. ochrosalmoneum* ومركب citoreoviridin هو جزيء غير عادى يتكون من حلقة لاكتون مرتبطة تبادليا مع حلقة فيوران بوزن جزيئى 402 وهو سم عصبى، حاد السميه للفئران بـ LD_{50} 7.5 mg /kg (ip) & 20 mg / kg (oral)

ومركب citoreoviridin يسبب قئ، تشنجات، شلل تصاعدى إيقاف التنفس، تيبس فى الأطراف، خلل فى الاوعيه الدموية شلل وترهل فى العضلات وقد تظهر فى الثدييات أعراض عصبيه ونقص فى الاستجابة الحسيه.

ينمو الفطر *P.citreonigrum* فى الأرز بعد الحصاد عندما يصل المحتوى الرطوبى 14.6%، وفى حالة 1% رطوبه أعلى يسمح بنمو فطريات أخرى.

P. citrinum

أهمية هذا الفطر ليست فقط فيما ينتجه من سموم فطريه mycotoxins خاصة للإنسان ولكن فى تواجده وانتشاره فى كل الأماكن والأوقات وعلى ذلك فان أى سموم يتم إنتاجها بواسطة هذا الفطر تنتشر بدرجه كبيرة فى الطعام والمواد الخاصة بالطعام مثل الحبوب المطحونة والدقيق والحبوب السليمة خاصة الأرز والقمح والذرة . وهذا الفطر هو المنتج الرئيسى لمركب citrinin واعتبر عند اكتشافه مضاداً حيوياً قوياً ولكنه بعد ذلك ثبت أنه سام جداً فى الاستعمالات العلاجية وأصبح معروفا كأحد السموم الفطرية الخطيرة جداً .

ولقد وجد أيضا أن citrinin ينتج أيضا بواسطة *P. expansum* and *P.verrucosum* ولقد رصدت المراجع أن

حوالى 22 نوع من البنسليوم تنتج مركب citrinin لكن غالبيتها تعتبر مرادفات أو تحتاج إلى تطابق تركيب.
مركب citrinin يسبب سميه للكلى والعصارة المعدية فى الحيوانات المنزلية، والطيورالمنزليه حساسة أيضا حيث يسبب لها إسهال مع زيادة فى استهلاك الغذاء، ونقصاً فى الوزن بسبب تلف الكلى فى الدجاج والبط والتركى ويسبب موت متأخر لهم حيث أن LD_{50} كانت غير واضحة أما فى الفئران فإن oral $LD_{50} = 110$ mg/kg.
عموماً فإن تلف الكلى فى الانسان قد يرجع نتيجه التناول الممتد والطويل لهذا المركب ، ع الأطعمه ولقد وجد أن citrinin ليس له أعراضاً ملحوظة على الحيوانات مسبباً تدهوراً تدريجياً فى وظائف الكلى.

Penicillium crustosum

هذا الفطر كان غير شائعا منذ 1949 وحتى الأعراض الخطيرة مثل الرعشة والسمية العصبية فى الحيوانات المنزلية كانت مرتبطة بأنواع أخرى مثل *P. palitans, P. cyclopium* .*P. viridicatum* , *P.commune* , *P.aurantiogriseum*
والسم المسئول معروفاً بإسم penitrem والمصدر الرئيسى له وجد أنه *P. crustosum* وهذا الفطر معروفاً الأن بانتشاره فى الغذاء والمواد الغذائية .
ولقد وجد أن المركب penitrem ينتج أيضاً بواسطة الفطريات :
P. canescens, P. crustosum, P. glandicola (= *P. granulatum* and *P. janozewskii* (= *P. nigricans*)

ووجد أيضاً الفطر *P. crustosum* ينتج كل من:
roqueforine and cyclopiazonic وبكميات قليله مركب penitrem A هو سم عصبى قوى له $LD_{50} = 1$ mg / kg فى الفئران حقنا تحت الجلد، ولقد انتشر الموت أو تلف المخ بين الحيوانات مثل المواشي والكلاب وأعراض التسمم بهذا المركب كانت تبدأ برعشه مستمره لفترات طويله والتى تتداخل مع الوظائف

العاديه للحيوانات المعمليه وعلى أى الأحوال فان زيادة نسبة صغيره فى الجرعات (من 5 الى 20 مره). تكون مميتة بسرعه. عموما إصابة الانسان قد تكون فى صوره دوخه وقئ بعد استهلاك مشروبات أو طعاماً ملوثاً بالنمو الفطرى العفن.
وهذا الفطر قد يسبب فساداً للذره واللحوم المصنعه والجبن، والفاكهه والمكسرات ولقد ثبت وجود penitrem A فى غذاء الحيوان والانسان .

P. islandicum

هذا الفطر يتميز بنموه البطئ وكثافة مستعمراته بلون برتقالى لامع إلى لون بنى، ينتج فطر *P. islandicum* على الأقل أربعه سموم فطريه :

١- Cyclochlorotine
٢- Islanditoxin

عباره عن ببتيد حلقى يحتوى كلورين وكلاهما به الجزء السام ، حلقه بيروليدين مرتبطه معها ذرتان كلور متشاركة فى خواص كيميائة وفزيائيه. كلا المركبين سام جداً حيث cyclochlorotine له قيمة oral LD50 فى الفئران (6.5 mg/kg) بينما المركب islanditoxin عن طريق الحقن تحت الجلد 3 mg / kg ولوحظ أن تغذية الفئران بمعدل 40ug / day فإن مركب cyclochlorotine تسبب تليف الكبد وأورام فى الكبد.

٣- المركب Luteoskyrin عباره عن dimeric anthroquinone
٤- Erythroskyrin صبغه حمراء غير متجانسه الحلقه .

وكلاهما ذو سمية للكبد والكلى ومع ذلك له سمية حادة أقل عن cyclochlortine ووجد أن المركب Luteoskyrin مسبب سرطانى وهذا الفطر وجد أنه أيضاً يسبب إصفرار الأرز.

P. varrucosum

وجد أن انتشار مرض الكلي بين بعض الحيوانات مثل الخنازير كان مرتبطاً بتعفن الحبوب ووجود هذا الفطر وكان الشعير يمثل المصدر الرئيسى لهذا الفطر ووجد أنه ينتج :

oxalic acid, citrinin and ochratoxin، وهذا الفطر يعتبر مصدراً رئيسياً لـ ochratoxin A فى المناخ المعتدل اما فى المناطق الاستوائية فان فطر *A. ochraceus* يكون هو الأكثر أهميه.

ochratoxin A يذوب فى الدهون ولا يمكن إفرازه وبالتالى يتراكم فى الأنسجة الدهنيه وعلى ذلك يسبب أضراراً خطيرة للإنسان خصوصاً فى المناطق الريفيه والتى فيها الخنازير ليست تحت رقابه وفحص جيد قد تحتوى على مستوى عالى من الـ ochratoxin. وهذا الفطر هو المصدر الرئيسى لـ nephrotoxin ochratoxin A الذى يسبب سميه حادة للكلى بقيمه oral LD50 = 20mg/kg فى الـ rats الصغيرة، 3.2mg/ kg للكتاكيت ذو عمر يوم واحد، وهو مميت أيضاً لبعض الحيوانات الأخرى.

والأعراض المرضية التى تظهر بعد الجرعات المميتة عبارة عن تحلل موضعى لأنسجة القنوات البولية وخلايا الكبد. وفى الإنسان فإن مركب ochratoxin A يعتبر مسئولاً عن تليف الكبد والتى قد يؤدى إلى الموت فى الحالات الحادة وهذا الفطر يتواجد فى المناطق المعتدلة ويوجد فى الشعير وتم عزله من منتجات اللحوم فى ألمانيا.

الباب السابع

نظرة عن الطرق التحليلية للتلوث بالسموم الفطرية في الذرة وفول السوداني

Overview of analytical methods for mycotoxin in maize and peanuts

الباب السابع

نظرة عن الطرق التحليلية للتلوث بالسموم الفطريه في الذرة وفول السوداني

Overview of analytical methods for mycotoxin in maize and peanuts

يوجد نوعان أساسيان لاختبار ماذا تم لاكتشاف أو تقدير السموم الفطريه من الناحيه الكيميائيه والبيولوجيه. طرق الاختبارات الحيويه تكون وصفيه فقط أو شبه كميه وتكون فى الغالب غير متخصصه وتكون مفيده لتوضيح السموم غير المعروفه الموجوده ومفيده فى الدراسات لعزل السموم الفطرية الجديدة. بمجرد التعرف على أحد السموم الجديدة فانه من المحتمل فى العادة تطوير اختبار كيميائى مناسباً لاكتشافه وتقدير كميته. الاختبار الكيميائى يكون ثابت تقريبا سريع، ذو تكاليف منخفضة وأكثر تخصصاً، أكثر تكرارياً، أكثر حساسية وذلك بالمقارنة بالاختبار الحيوى المقابل. الاختبارات الكيميائيه تكون مناسبة للتحاليل الروتينية (المستمرة) المحتاج إلى التحكم فى النوعية وعمل الاحصائيه. اختبارات المناعة immunoassays هى خليط من الاختبارات الكيميائية والبيولوجية وهى حساسة جداً ومتخصصة مما يجعلها لاختبارات سوائل الجسم وغيرها لتتبع آثار المادة السامة.

التحليل الكيميائى: Chemical Analysis

كل طرق التحليل الكيميائى للسموم الفطرية تندمج فى طرق موحده:

طرق أخذ العينات وتجهيز العينه:

Sampling and Sample Preparation:

تعتبر من أهم الخطوات، إذا كانت العينة المأخوذة للتحليل لا تمثل المجموع كله، فان نتائج التحليل تكون ليست لها معنى، وذلك بسبب التوزيع المتفاوت للسموم الفطرية التى فى العادة توجد فى السلع الملوثة، فيجب إتباع طريقه مناسبة لأخذ العينة.

تجهيز العينة يشمل طحنها وتقسيم العينة للحصول على عينه للتحليل ممثله واستعمال معجون مائى water slurry يكون أكبر مما يعطى الفرصه لأخذ عينه ممثله للتحليل. فمثلا ١كجم من المادة المطحونة تمزج فى الخلاط على سرعة عاليه مع كميه مناسبة من الماء لإعطاء عجينه متجانسة والتى تقسم بالتساوي إلى كميات 100 جرام متساوية للتحليل.

الاستخلاص: Extraction

المذيبات العضوية الأكثر استخداما لاستخلاص الـ mycatoxins هى:

Chloroform , acetonitril , methanol and acetone

تخلط هذه المذيبات بنسب معروفه من مذيب أكثر قطبيه مع (الماء، حمض مخفف، محلول ملح مائى) للمساعدة على كسر الروابط الاليكروستاتيكيه الضعيفة التى تربط بعض السموم الفطرية مع جزيئات مواد أخرى (مثل البروتينات).

المادة المطحونة ويفضل أن تكون فى صورة عجينه مائيه إما ترج مع مذيب الاستخلاص لمدة 30 – 45 دقيقه او تمزج فى الخلاط على سرعة عاليه لمدة 3 دقائق .

التنظيف : Clean – up

السموم الفطرية mycotoxins هى مجموعه متباينة من المركبات الكيميائيه والتى من الصعب أيجاد طريقه بسيطة تزيل بالتخصص مركبات الـ non-mycotoxins المتداخلة وتترك الـ mycotoxins فى المستخلص، ولهذا السبب من الصعب إيجاد طريقه جيده لفحص واختبار مدى واسع من السموم الفطرية فى نفس الوقت، ومن المحتمل ابتكار طرق تزيل المواد المتداخلة من غير السموم الفطرية من المستخلص وتترك mycotoxin معين أو مجموعة منه فى المستخلص.

طرق التنظيف المعروفة المستعملة :

Common clean – up techniques :

أ. **إزالة الدهون** : يتم قبل خطوة استخلاص المادة السامة ويستعمل مذيبات الايثير البترولى أو الهكسان لاستخلاص الدهون من العينة باستخدام جهاز سوكسليت Soxhlet. وهذه الخطوة تكون لازمه فقط عندما تكون خطوة الـ clean – up التالية غير قادرة على التخلص من الدهون.

ب. طريقه **column – chromatography** المستخدمة على مدى واسع من التطبيق وتستخدم فى عدد من الطرق المنتظمة أو الرسمية المتفق عليها . يعبأ عمود زجاجى بماده أو أكثر من المواد المدمصه، ثم يضاف المستخلص الخام إلى قمة العمود. ويتم إزاحة العمود بسلسلة من المذيبات أو مخلوط من المذيبات والتى تهدف أولا إلى الازاله للمركبات المتداخلة ثم بعد ذلك يتم إزاحة الـ mycotoxins المطلوبة، بينما المركبات المتداخلة الأخرى تبقى مرتبطة بقوه على العمود .

عند استعمال عمود صغير فى اختبار سريع للأفلاتوكسين لإزالة المركبات المتداخلة وللاكتشاف الوصفى للأفلاتوكسين إلى أقل من أجزاء فى البليون (ppb).

ج. **الترسيب** : طريقه مفيدة جداً والتى بواسطتها كيماويات معينه (والتى تكون أحيانا فى صورة غروية) تضاف إلى المستخلص الخام والتى تمتص صبغات معينه، بروتينات وبعض المركبات الأخرى المتداخلة على سطحها. يتكون رواسب من المحلول ويتم ترشيحها تاركة محلول الـ clean – up. وجواهر الترسيب الهامة تشمل: كربونات الحديديك، كبريتات الأمونيوم، خلات الرصاص، جيل الحديديك .

د. **التوزيع بين السائل – السائل Liquid – liquid partition :**
فى الغالب يستعمل بالاشتراك أحد طرق الـ clean – up الأخرى وأيضا لنقل السموم من نظام أحد المذيبات إلى نظام أخر ويوضع فى

الاعتبار تأثير الزيادة فى تركيز السموم. يتم التوزيع فى قمع فصل الذى يحتوى مذيبان لا يمتزجان. يرج قمع الفصل لدقائق قليله للسماح للمركبات الذائبة (والتى تشمل الـ mycotoxins) لكى تتوزع بين الطبقتين. يتم اختيار المذيبات التى يفضل توزيع الـ mycotoxins إلى أحد هذه المذيبات. ويجب الحذر فى اختيار المذيبات لتقليل مخاطر تكوين مستحلب.

هـ. Thin layer chromatography (TLC)

على الرغم أن هذه الطريقة تستعمل أساساً للكشف والتقدير الكمى للمادة السامة فانه أيضاً مفيد لفصل الـ mycotoxins عن المركبات المتداخلة فى المستخلص . أحياناً من الضرورى استعمال مدى (عدة) من المذيبات المظهرة developing solvents لفصل المواد السامة موضع الاهتمام عن المركبات المتداخله إذا كان ذلك مستحيلاً أو يستهلك وقتاً أكبر فيمكن تطبيق الـ two – dimensional TLC.

و. طرق clean – up أخرى:

الطرق السابق الإشارة إليها تطبق كطرق معروفه لتحليل الـ aflatoxin وتستعمل فى طرق تحليل كثير من السموم الأخرى بعض طرق الـ clean – up الأخرى . تشمل reverse dialysis and base extraction

بعد الانتهاء من خطوة الـ clean– up يتم مزج المستخلص لتجهيزه لخطوة الكشف والتقدير الكمى. بعد الـ clean– up فإن المستخلص المذاب غالباً فى حجم كبير من مذيب مائى aqueous solvent يتم نقله إلى حجم صغير (10–50مل) من مذيب قابل للتطاير مثل الكلوروفورم. يتم تجفيف محلول الكلوروفورم بواسطة إمراره على كبريتات الصوديوم اللامائية، ثم يتم تبخير المذيب حتى الجفاف ويجب الحذر فى هذه المرحلة حتى لا تتعرض بعض السموم الفطرية للتحطم مثل أفلاتوكسين، وذلك إذا كان تسخين المستخلص الجاف على 100°م. ولتفادى ذلك فان التبخير يتم بدرجة جيده باستخدام الـ rotary evaporator عند 30°م وذلك لإنقاص الحجم إلى حجم

صغير جداً يتبعه تبخير حتى الجفاف فى جو خامل مستعملاً concentrator. وفى حاله عدم وجود مثل هذا الجهاز فإن التبخير يتم باستخدام حمام مائى ويفضل أن يكون تحت تيار نيتروجين ويجب الحذر أيضاً والتأكد من نقل الدورق من على الحمام المائى قبل الجفاف مباشره أو عند نقطه الجفاف مباشرة. وتكون المستخلصات الآن جاهزة للكشف والتقدير الكمى .

الكشف والتقدير الكمى : Detection and Quantification

لحسن الظن أن الأفلاتوكسين وكثير من السموم الفطرية الهامة الأخرى تكون ضوء فلوريسنت تحت الضوء فوق البنفسجى U.V light وهذا يمكنها للكشف عند مستويات منخفضة جداً (أجزاء فى البليون ppb) وهذه الطريقة للكشف تستعمل فى معظم طرق تحليل السموم الفطريه.
الكشف و الاختبار الوصفى qualitative assay يتم فى العادة بواسطة TLC أو الـ mini – column ويلزم Qualitative standard مثل هذا القياس يكون كافياً لكى يمكن استخدام التقدير شبه الكمى بواسطة TLC مستخدماً قاعدة التخفيف. التقديرات الكميه الذى يلزمها استخدام ماده قياسيه معروفه التركيز يمكن تنفيذها بواسطة طرق مختلفة تشمل : high performance thin layer chromatography, HPTLC, HPLC, TLC, fluorotoxinmeter (FTM).

الإختبار التأكيدى : Confirmation

يتم عمل اختبار تأكيدى إذا كان يعتقد أن الـ mycotoxin تم الكشف عنه خصوصاً عند وجود نوع جديد أو مصدر لنوع جديد لكى يتم تحليله . وعدم القدرة (الفشل) فى عمل ذلك بسهوله يؤدى إلى نتائج مزيفه (بمعنى أن أى مركب متداخل يكون غير صحيح للـ mycotoxin المعلوم). معظم الاختبارات التأكيدية تشمل تكوين مشتقاً الذى يكون له خواص مختلفة (مثل لون الفلوريسنت أو القطبية) عن الـ mycotoxin المفترض . عندما يكون الكشف أو /

والتقدير الكمى بواسطة TLC فإن المشتقات قد تتكون على الشريحة plate إما بواسطة الـ spotting reagent على الشريحة قبل الإظهار أو بواسطة رش جوهر بعد الإظهار development.
فمثلا استعمال trifluoroacetic acid (TFA) لتكوين hemi-acetal derivatives للـ aflatoxin B_1,G_1 and M_1 المتعرف عليها (إذا كانت موجوده) فى صورة slower running fluorescent spots (بقع فلوريسنتيه تنتشر ببطئ)، جوهر الرش الشائع الاستعمال للأفلاتوكسين هو (50% Sulphuric acid) الذى يتفاعل مع blue and green – blue fluorescent aflatoxin (فلوريسنت الافلاتوكسين ذو اللون الأزرق، الأزرق المخضر) لاعطاء مشتقات فلوريسنت بلون أصفر.

تقدير نقاوة وتركيز السموم الفطرية القياسية

Determination of purity and concentration of mycotoxin standard:

السموم النطرية النقية pure mycotoxins يمكن الحصول عليها من المصانع وتستعمل لتحضير محاليل قياسيه لاستعمالها فى طرق تحليل الـ mycotoxin المختلفة وأساسيا فإن التركيزات الدقيقه من المحاليل القياسية تكون معروفه والتى يمكن تقديرها بواسطة UV absorbance.

جدول (٣) : يوضح القياسات الطيفيه للسموم الفطرية المختلفه :

Table (3) : Spectrophotometric Parameters for Various Mycotoxins :

Mycotoxin	Molecular Weight	Solvent	Absorbtivity (E)	Maximum absorption (nm)
Aflatoxin B	312	Benzene: acetonitrile 98 : 2 (v / v)	19,800	353
Aflatoxin B1	312	Chloroform	22,300	353
Aflatoxin B2	314	Benzene: acetonitrile 98 : 2 (v / v)	20,900	355
Aflatoxin G1	328	Benzene: acetonitrile 98 : 2 (v / v)	17,100	355
Aflatoxin G2	330	Benzene : acetonitrile 98 : 2 (v / v)		357
Aflatoxin M1	328	Chloroform	19,950	357
Ochratoxin A	403	Benzene : acetic acid 99: 1 (v / v)	5,550	333
Ochratoxin B		Benzene : acetic acid 99 : 1 (v / v)	6,000	320
Ochratoxin A ethyl ester	431	Benzene : acetic acid 99 : 1 (v / v)	6,200	333
Ochratoxin B ethyl ester	397	Benzene : acetic acid 99 : 1 (v / v)		320
Patulin	154	Absolute ethanol	14,540	276
Patulin	154	Methanol	12,880	275
Sterigmato-cystin	324	Benzene	15,200	325
Citrinin	259	Chloroform	16,100	322
Zearalenone	318	Ethanol	29,700	236
Zearalenone	318	Ethanol	13,909	274
Zearalenone	318	Ethanol	6,020	316

ملاحظه :

فى حالة إذا كانت المادة القياسية تذوب فى مخلوط المذيبات Benzene: acetonitrile (98:2)، فيستعمل هذا المذيب كبلانك مرجع .

اذا كانت المادة القياسية فى صورة فيلم جاف فى قنينة صغيرة أو فى صورة عينة بلوريه، يضاف حجم صغير معروف من المذيب

المناسب بواسطة سرنجة وذلك من خلال الغطاء المطاطى للقنينة لإذابة المادة القياسية، ويتم السحب الكمى لحجم معروف من المحلول المركز وينقل الى دورق معيارى ويخفف طبقا للتركيز المطلوب.

هذه الطريقة لإذابة المادة القياسية النقية تقلل من أخطار تداول المادة عالية السمية. يقاس امتصاص المحلول القياسى للمادة السامة الفطرية absorbance of standard mycotoxin solution عند أقصى طول موجة امتصاص. معظم الـ mycotoxins لها حد أقصى امتصاص عند طول موجه بين 200 – 400 nm (جدول ١) .

يمكن حساب التركيز من المعادلة التالية :

$$\text{Concentration (ug/ml)} = \frac{\text{Absorbance} \times \text{Mw} \times \text{CF} \times 1000}{\text{E}}$$

CF هو معامل التصحيح المتصل عليه، إذا كانCF أقل من 0.95 أو أكبر من 1.05 فيجب فحص أو مراجعة جهاز التقدير الطيفى.
E إمتصاصية المادة السامة موضع الاعتبار فى كل مذيب خاص بها.

جدول (٤) : تركيزات المحاليل القياسية للسموم الفطرية :

Table (4): Concentrations of Mycotoxin Standard Solutions:

Mycotoxin	Stock , ug/ml	UV, ug/ml	TLC, ug/ml
Aflatoxin B1	100	10	1
Aflatoxin B2	100	10	1
Aflatoxin G1	100	10	1
Aflatoxin G2	100	10	1
Aflatoxin M1	10	10	1
Ochratoxin	25	25	5
Patulin	40	10	40
Sterigmatocystin	100	100	100
Citrinin	40	20	40
Zearalenone	100	10	50
T – 2 Toxin	5,000	—	100
Diacetoxyscirpenol	5,000	—	100

- Stock solutions : المحاليل الأساسية يتم تحضيرها مباشرة من بلورات نقيه أو فيلم جاف
- UV solutions: محاليل تحضر مباشرة من المحلول الأساسى وتستعمل لتقدير التركيز الصحيح للمادة القياسية بواسطة جهاز UV الطيفى .
- TLC solutions : يتم تحضيره بواسطة التخفيف إما من Stock solutions أو UV solutions.

طرق أخذ العينات وتداولها وتجهيزها فى الحبوب :
Sampling , Sample Handling and Preparation in Grains and Cereals:

أولا. طرق أخذ العينات : Sampling

يتم أخذ العينات من الأجزاء الجيدة وغير الجيدة ، حيث أنه بدون فهم طريقة أخذ العينة المختبرة لا يمكن التقييم الصحيح لمواصفات المادة تحت الفحص .

1. أخذ العينات بطريقة موحده : Uniform Sampling
أخذ العينة يجب أن يمثل متوسط المجموع الكلى، حيث تؤخذ العينات بكميات صغيرة من كل جزء من المجموع الكلى، وهنا فإن الكمية الكلية قد لا تستعمل فى الاختبار ولذلك يجب تقليل (إنقاص) العينات، وطريقة تقليل العينات تسمى التقسيم والتى تتم بواسطة أخذ الربع .

2. أخذ العينات بطريقة اختياريه : Selective Sampling
عندما تكون المنتجات مباعة طبقا للنوعية المنخفضة فتؤخذ العينات من الأجزاء ذات النوعية المنخفضة، فمثلا فى حالة تقدير حالة الخبز من ناحية تقدير الرطوبة فإن العينة تؤخذ من وسط الرغيف.

3. أخذ العينات بطريقة عشوائية: Random Sampling
تطبق هذه الطريقة على العينات المأخوذة من المنتجات التى لها نفس النوعية، حيث نؤخذ العينات فردية وتكون كميات العينات وفترات أخذها ليست ثابتة، وتكون عشوائية.

بعض المصطلحات التى توضع فى الاعتبار عند فحص البذور :

- Greatly spoiled seeds : البذور التى فيها الجزء الكلى عفن ولا تحتوى نشا .
- Seeds destroyed by weevils : البذور المصابة بالسوس أو بحشرات أخرى .
- Broken seeds : البذور المكسورة الى أجزاء وكل جزء أقل من نصف البذرة الطبيعى ولكنها بذور غير ناضجة، وبذور عفنه أو مصابه بالسوس .
- Foreign material : كل الماد الغريبة غير البذور .
- Sound seeds: البذور التى لا يوجد بها بذور فاسدة أو محطمة بالسوس أو مكسورة أو بذور بلون آخر.
- Seeds of other colures : البذور التى لها لون غير المتفق عليه .
- Immature seeds : البذور غير كاملة النمو .
- Partially spoiled seeds: البذور التى بها جزء عفن ومصاب بالصدأ ولا يحتوى نشا .

المواصفات القياسية لدرجات الحبوب (الذرة مثلا) :

Grade 1 Grains

الحبوب السليمة وبمواصفات مسموح بها كالآتي :

- البذور بلون آخر يجب ألا تصل 1% بالوزن .
- البذور الفاسدة جزئيا مع الفاسدة كلياً لا تصل 4% بالوزن ، ولكن الفاسدة بدرجة كبيرة لا تصل 4% بالوزن .
- البذور المصابة بالسوس لا تصل 2% بالوزن .
- البذور المكسورة مع البذور غير الناضجة لا تصل 2% بالوزن .

- المواد الغريبة لا تصل 1.5% بالوزن ولكن يجب ألا تحتوى بذور زيتيه أو مواد سامه .
- لا يصل المحتوى الرطوبى 14.5% بالوزن، ويجب عدم أخذ جزء به رطوبة أكثر من 15% بالوزن .

Grade 2 Grains

بمواصفات كالآتي :

- البذور ذات لون آخر لا تصل 3% بالوزن .
- البذور الفاسدة جزئيا مع الفاسدة كلياً لا تصل 6% بالوزن، ولكن الفاسدة بدرجة كبيرة لا تصل 2% بالوزن .
- البذور المصابة بالسوس لا تصل 3% بالوزن .
- البذور المكسورة مع البذور غير الناضجة لا تصل 3% بالوزن .
- المواد الغريبة لا تصل 2% بالوزن ولكن يجب ألا تحتوى بذور زيتيه أو مواد سامه .
- لا يصل المحتوى الرطوبى 15.5%بالوزن .

ثانيا : **العينات قبل التحميل : Pre - Loading Samples**

1. إذا كانت الحبوب (الذرة مثلا) فى العبوات فيجب أخذ الكميات عشوائياً على الأقل جانبين من الكومة (الجانب العلوى والجانب الآخر)، وعدد العبوات لا يقل عن 5% من العبوات فى الكومة .

2. إذا كانت الحبوب (الذرة مثلا) فى كومة كبيرة فإن الكميه تؤخذ عشوائياً ومن خلال ما لا يقل عن طبقة بعمق 1/2 متر، 2 متر من النقط المتجاورة من كل الكومة، من كل نقطه على الأقل عينة 1/2 كيلوجرام بواسطة آلة أخذ العينات الاسطوانية.

3. فى حالة وجود الحبوب (الذرة) فى مخزن أسطوانى محكم الإغلاق (silo) فإن الكميات يجب أخذها فيما لا يقل عن 1كجم كل منها بعمق 1 متر من الطبقة العليا حتى3/4 من ارتفاع الذرة وتؤخذ العينات بواسطة الدوران الدائرى وستكون الكميات فيما

لا يقل عن 1/2 كجم / طن مترى (M.ton). حتى 2% أو أكثر من الذرة فى المخزن الاسطوانى.

4. عند أخذ العينات من معظم الذرة أثناء التخزين فإن الكميات المأخوذة لا تقل عن 1/2 كجم/وحده أما فى حالة العبوه فان الكميات على الأقل 1/2 كجم لكل حمولة أو وحدة ولا تقل عن 5% من العبوه/وحده.

5. العينة الكبيرة لكل كومه أو مخزن تتكون بواسطة خلط الكميات وتخلط للحصول على عينات منتظمة ومقسمه للحصول على 3 كجم، ويؤخذ 6 عينات للتحليل والتحكيم.

ثالثاً : العينات المحمولة : Loading Samples

1- الحبوب (الذرة) المرسلة يجب أن تكون بشهادة بمواصفات العينات قبل التحميل او تعتمد على المواد القياسية. يوجد نوعان من فحص العينات الأولى تسمى pre-loading sample وتؤخذ ممثله للحبوب فى المخزن (فى العبوه الى الكميه الكلية) والثانية هى loading sample وتجمع من الذرة المحمل للتصدير مثلا.

2- فحص الصفات الفيزيائية والتعبئة وتؤخذ العينات من كل عبوه بواسطة حربه (رمح) أخذ العينات أو 1/2 كجم من كل وحده أو لورى او فتره زمنيه معتمده على معدل الإمداد.

3- أثناء الفحص يؤخذ على الأقل عينه 1/2 كجم عشوائيا من الكومة أو المخزن لاختيار المحتوى الرطوبى وكل اثنان للمقارنة. عندما يكون نوعيه الذرة (الحبوب) المختبرة فى مرتبه أدنى بالنسبة للقياس أو المتفق عليه فان الفحص يوقف مؤقتا لإبعاد الجزء الردئ. ثم تؤخذ العينات عشوائيا من جزء آخر لاختبار الرطوبة والمقارنة، وإذا كانت النوعية مقبولة فانه يتم تحميل الذرة مره اخرى.

وفى حالة الذرة الردئ الغير راجع إلى محتوى الرطوبة فانه يمكن خلطه مع جزء آخر يكون مقبولاً بواسطة عينات pre-loading ويمكن تحميله ثانياً ويعاد اختياره ثانيا:

إعداد وخطط أخذ العينات لتحليل السموم الفطرية في الولايات المتحدة الأمريكية:

Sampling, Sample Preparation and Sampling Plans for Mycotoxin Analysis in U.S.A:

أساسيا يمكن معرفه أن الأفلاتوكسين (mycotoxin) تتوزع بطريقه غير متجانسة ، الطريقة المعدة بواسطة Association of Official Analytical Chemist (AOAC) لم تحدد حجماً للعينة ولكن يلزم أن العينة الكلية لحبوب الذرة الكاملة تكون مطحونة لكى تمر من منخل No.14، و يؤخذ 2-1 كجم من تلك العينة تطحن لكى تمر من منخل No.20 ثم يؤخذ 50 كجم من المادة المطحونة كليه للتحليل ولقد وضعت المعادلات التالية:

$$V = S+C+F+Q$$

V = Total variance (total error)

S = Error in sampling = $3.9539P/W_S$

C = Error in sub–sampling the coarse ground material = $0.1196P/W_C$

F = Error in sub – sampling the fine ground material = $0.0125P/W_F$

Q = Error due to the quantification = $0.0699P^2/N_q$

W_S = mass oh sample in Kg

W_C = mass of coarse sub – sample in Kg

W_F = mass of fine sub – sample in Kg

N_q = the number of times the aflatoxin in solvent extract is quantified on a separate TLC

P = Aflatoxin concentration (ug / kg) in the lot

وهذه الدراسات تنبه الى الحقيقة أن خطأ أخذ العينات هو أكبر مشارك للخطأ الكلى، ولذلك فإن تحسين أخذ العينات يؤدى دقة كبيرة فى فى نتائج التحليل والتى منها يكون قرار القبول أو الرفض.

توجد عوامل لزيادة دقة اختبارات الأفلاتوكسين منها :
*زيادة حجم العينة .
*زيادة الـ sub – sample المستعملة لتحليل الأفلاتوكسين
*زيادة عدد التحاليل
وهناك تكاليف مختلفة ومرتبطة بكل عامل .

إختبار الفلوريسنت الأصفر المخضر اللامع لتقدير الأفلاتوكسين :
Bright greenish – yellow fluorescence test for aflatoxin estimation:

يوجد ثلاثة طرق أو أساليب لتقدير أفلاتوكسين فى الحبوب (الذرة):
1. اختبار افتراضى للتعرف على كميات الذرة التى قد تحتوى على المادة السامة وتقدير ما يمكن تحليله أولا.
2. طرق تقييم سريعة لتقدير وجود أو غياب المادة السامة ولمعرفة مدى مستوى الأفلاتوكسين.
3. طرق كمية لتقدير نوع ومحتوى الأفلاتوكسين.

ونظراً لأن معظم العينات لا تحتوى كمية أفلاتوكسين يمكن اكتشافها، وعلى ذلك توجد حاجة لطريقة للتعرف الصحيح على العينات السالبة (التى لا تحتوى مواد سامه) بأقل تكلفة للوقت والمال. وهذه الطريقة معروفة باسم :
Bright greenish – yellow fluorescence test (BGYF)

يتم فحص حبوب الذرة تحت لمبة (365 um) UV للضوء الفلوريسنت الأصفر المخضر المميز لداخل الحبوب الفاسدة والمكسورة، زمن الإختبار 5 دقائق أو أقل.
أساس الإختبار الافتراضى للأفلاتوكسين فى حبوب الذرة هو إختبار

عن BGYF عن طريق الضوء الفلوريسنت المميز تحت موجة (365 um)UV ويكون مصحوبا بوجود Kojic acid (5 – hydroxyl – 2 –(hydroxymethyl) - 4H – pyran – 4 - one)
الناتج من الفطريات *A. flavus* or *A. parasiticus* المنتجة للأفلاتوكسين أو السم الفطرى المحتمل نفسه .

طرق اختبار BGYF : Procedures for BYGF test

1. يتم جمع 4.5 كجم على الأقل عينات جديدة ، ويكون أفضل لو العينات أفضل.
2. تطحن العينات خشنة أو مكسورة فى مطحنة مناسبة قبل الفحص بـ الـ BGYF بسبب أن الفلوريسنت قد يوجد تحت غطاء البذرة .
3. فى بعض الأحيان يمكن اكتشاف ضوء ذهبى معتم تحت غطاء البذرة فى منطقة الـ germ ولكنها نصبح مرئية بالكامل عندما تكون البذور مكسورة . يجب أن يوضع فى الاعتبار أن عملية الطحن تنتج غباراً، وإذا كان هذا الغبار يحتوى أفلاتوكسين فإنه يمثل ضرراً خطيراً للعاملين بالاستنشاق ولذلك يجب استخدام خزانة لعادم الدخان. يتم تفريغ الذرة المطحون فى طبقة واحدة فى عبوة سوداء.
4. يتم الفحص تحت ضوء UV بطول موجة طويل (365 um)، ويجب استعمال ستارة لحجب ضوء الـ UV لحماية العين من التعرض المستمر.

إلـ BGYF به وهج لامع وأحيانا يسمى وهج نارى firely glow الذى يمكن تمييزه عن المادة الفلوريسنت الأخرى فى الذرة.

الكشف عن الأفلاتوكسين بواسطة أعمده بلاستيكيه صغيره:

Plastic mini column for aflatoxin detection:

أحد الطرق لتقدير الأفلاتوكسين فى الغذاء والمنتجات الزراعية ومناسبة فى المناطق الريفية وتحتاج لإختبار نوعية المنتجات، وهذه

الطريقة تحتاج جهاز رخيص التكاليف، سهل العمل بواسطة أشخاص غير خبراء، وتكون حساسة بقدر كاف للكشف عن الأفلاتوكسين بأقل من احد المسموح به (ug / kg) 20 ppb. لإتمام هذا الهدف فان الطريقة المستعملة تستخدم plastic mini column وهو أحد أنواع الـ chromatographic tube الصغيرة، وبهذه الطريقة يمكن تقدير الأفلاتوكسين خلال ساعتين بدقة أقل من 10 ppb .

بدأ تطوير هذه الطريقة منذ عام 1976 معتمدة على طرق الـ mini column باستخدام ماصه 5 مل.

وفى عام 1979 تم عمل mini column زجاجى بشكل مخروطى من القمة بقطر 4 mm وطول 16 mm، هذا الـ mini column يحتوى على 1 مل من المستخلص، ويعبأ العمود بـ alumina, silica gel and florisil. تستخدم كبريتات الصوديوم اللامائيه لامتصاص الرطوبة. يتم تقدير الأفلاتوكسين كشريط فلوريسنت أزرق عند قمة طبقة الـ florisil تحت لمبة UV بطول موجة عالى الشدة (365 um) ، ويتم ذلك فى ساعة واحدة من بداية الاستخلاص وحدود الاكتشاف 5 ug/kg.

فى عام 1981 تم عمل plastic mini column مستعملا شريط بولى ايثيلين شفاف (ليس به أى مواد فلوريسنت الخواص تحت الـ UV) بدلا من العمود الزجاجى وقطر العمود البلاستيك 6mm وبطول 25 cm. يعبأ العمود بنفس المواد وتستخدم كبريتات الكالسيوم اللامائيه لامتصاص الرطوبة وآثار الماء. المحلول المرسب precipitating solution هو مخلوط من خلات الزنك وكبريتات الأمونيوم المشبعة والذى سيزيد خواص الترسيب لتقليل المواد المتداخلة فى الاستخلاص. يستعمل كلوريد الصوديوم المشبع كمذيب ترسيب الذى يؤدى الى ترسيب المواد الأعلى حامضيه، بينما يتم استخلاص الأفلاتوكسين بسهولة أكثر .

هذه الطريقة يمكن أن تتم خلال 15 دقيقه وحد الاكتشاف أقل من 10 ppb، ويمكن استعمال المستخلص النهائى من هذه الطريقة فى الـ TLC. يجب طحن العينات الصلبة مثل الحبوب أو مواد الطعام بصورة شديدة مع الخلط الجيد.

Apparatus : الأجهزة

1 – High speed blender

2 – UV light: long wave UV with intensity of 430 watt / cm^2 at 365 um

3 – Plastic mini column: clear polyethylene straw (non – fluorescent materials) 6 mm in diameter and 25 cm in length.

4 – Glassware: beakers, cylinders (25, 50, 100 ml), funnel (75 mm), filter paper (whatman No.1), test tubes 1.5×15 cm, pipette Pasteur or graduated pipette (5 ml), glass rod (15 – 17 cm).

5 – Reagents :

a. Organic solvents (methanol, acetone, chloroform, benzene, isopropanol; analytical grade)

b. Extracting solvents: methanol KCl, 4% or NaCl,5% [60 : 40]; Burning alcohol + 1% salt solution [60 + 40]

c. Precipitating solution:

1- Zinc acetate solution (dissolve 125 gm $Zn(OAc)_2$ and 62.5 gm (NH_4) SO_4 in distilled water , add 1ml glacial acetic acid , add water up to 1000 ml.

2- H_3PO_4(0.1 M) : dissolve 5.6 ml H_3PO_4 (specific gravity 1.75) in distilled water , make up to 1000 ml .

d. Diatomaceous earth : Celite 545

e. Eluting solution: Chloroform: acetone (90: 10)

f. Packing materials:

1- Alumina neutral

2- Calcium sulphate anhydrous fine

3- Florisil (60 – 100 mesh)
4- Silica gel 60
5- Anhydrous sodium sulphate
6- Defatted cotton wool

The packing materials No.1,2,3 should be dried at 110°C for 1 – 2 hours twice a week and stored in a desiccators over silica – gel.

Column preparation : تجهيز العمود

توضع سداده صغيرة من صوف القطن cotton wool فى قاع العمود ثم تضاف المواد المالئة: كبريتات كالسيوم لامائيه (بطول 100 mm)، فلورسيل (10 mm) ، سيلكا جيل (10 mm) ، ألومينا متعادلة (15 mm) وكبريتات صوديوم لامائيه (10 mm). ينقر على العمود بين إضافة المواد للتأكد من التعبئة الجيدة ، يسد العمود بلمبة كحولية alcohol lamp

Purification of the extract :تنقية المستخلص

1 - يوضع 50 gm من العينة المجهزة فى دورق مخروطى، يضاف لها 200 ml من مذيب الاستخلاص، ترج مكونات الدورق جيداً بواسطة shaker لمدة 30 دقيقه أو يمزج جيداً بواسطة خلاط سريع لمدة 3 دقائق.
2 – ترشح المكونات من خلال ورق ترشيح الى مخبار مدرج.
3 – تنقل 40 ml من المترشح الى كأس 250 ml ، يضاف 50 ml من محلول خلات الزنك وتقلب وتخلط جيداً وتترك لمدة دقيقه واحده، ثم يضاف 40 ml من محلول(0.1 M) H_3PO_4 يقلب ويمزج جيداً ويترك ثابتاً لمدة 5 دقائق.
4 – يرشح المخلوط من خلال ورق ترشيح الى مخبار مدرج.

5 – ينقل 50 ml من المترشح الى قمع فصل، ويضاف 4 ml بنزين ثم يحكم الغطاء الزجاجى ويرج بشده لمدة دقيقه واحده، يترك حتى يتم فصل المحلول. يجمع طبقة البنزين العلوية وتهمل الطبقة السفلى. يستعمل 1-2 gm من كبريتات صوديوم لامائيه لتخفيف أو ترويق المستحلب فى محلول البنزين.

العمود الكروماتوجرافى بواسطة الـ mini column :

طريقة التقييم باستخدام الـ mini column تصنف على أنها طريقة شبه كميه semi – quantitative method تستعمل فى اختبار الماد الغذائية لمحتواها من الأفلاتوكسين، وهذا مفيد جداً فى فحص وتصنيف المواد الغذائية. تتم الطريقة كالآتى :

* تفتح نهايتى العمود ويمسك بماسك، يوضع أنبوبة اختبار تحت العمود لتجميع المزاح، يضاف 1 ml من المستخلص البنزينى النهائى الى العمود، يترك المذيب ينزل على سطح الطبقة الماصة، يضاف محلول الإزاحة 4 مرات بمعدل 1 ml كل مرة. يجب أن ينزل كل المذيب الى أنبوبة الاختبار، لإسراع السريان تستعمل مضخة مطاطية بضغط خفيف.

* يفحص الـ mini column فى الظلام تحت ضوء UV (365 um) ، يتم مقارنة النتائج بالعمود القياسى عند تركيزات 20, 50 and 100 ppb. اذا تم اكتشاف شريط فلوريسنت أخضر مزرق على ارتفاع مناسب فإن العينة تعتبر موجبة لوجود الأفلاتوكسين، والشدة العالية تعبر عن تركيز عالى من الأفلاتوكسين.

التقدير الجيد بواسطة هذه الطريقة يعتمد على العوامل التالية :

١- مهارة القائم بالتحليل.

٢- شدة ضوء الـ UV .

٣- ظلام المكان المستعمل فى إظهار الـ chromatogram

- عندما يظهر عمود العينة شدة عالية عند مقارنته بالـ standard 20 ppb mini column فهذا يعنى أن العينة بها أفلاتوكسين أعلى من 4 ppb ولكن أقل من 20 ppb.

- اذا كانت عينة العمود لها شدة أعلى من 20 ppb القياسية ولكنها أقل من 100 ppb للعمود القياسى فإن العينة تحتوى تركيز أفلاتوكسين ما بين 20 – 100 ppb
- عندما تكون عينة العمود لها شدة أعلى من 100 ppb القياسى فان العينة تحتوى أفلاتوكسين بتركيز أعلى من 100 ppb، تركيز أفلاتوكسين فى هذه العينة يمكن تقديره بواسطة تخفيف المستخلص النهائى (1 ml من المستخلص يزاح بواسطة 4 ml مذيب إزاحة فى عمود آخر) ويقارن ثانيا بالـ 100 ppb القياسى . إذا كان العمود المخفف له نفس الشدة مثل 100 ppb القياسى فان العينة تحتوى أفلاتوكسين يصل 500 ppb .

العوامل المؤثرة على تحليل الأفلاتوكسين بـ TLC :

Factors affecting the TLC of aflatoxins analysis:

توجد الأفلاتوكسين فى الطعام ومواده كنتيجة لنمو العفن الفطرى، وفى المنتجات مثل اللبن واللحوم والبيض كنتيجة لتناول الحيوانات غذاءً مصاب بالعفن الفطرى. الأفلاتوكسين هى مسببات سرطانية قويه، مكافحتها أو التحكم فيها يلزمه طريقة كمية للتحليل والتى تكون حساسة لتركيزات ميكروجرام أو بيكوجرام لكل كيلوجرام من الطعام أو مواده.

أول طريقة لتحليل الأفلاتوكسين تم نشرها عام 1964، وتعتبر الـ TLCطريقة للكشف والتقدير الكمى للأفلاتوكسين عند مستويات منخفضة، حالياً الطرق تعتمد على:

Higher performance liquid chromatography (HPLC),

Enzyme link aged immune sorbent assay (ELISA),

Radioimmunoassay (RIA).

تحليل الأفلاتوكسين بواسطة TLC مناسب جداً حيث أن معظم المركبات لها خواص فلوريسنت بقوة تحت ضوء UV طويل الموجه، بقعة 5 ng يمكن اكتشافها بمجرد النظر أو بالجهاز، وطريقة TLC تصلح لكل من التنقية والتقدير الكمى. عموما قبل

تحليل بالـ TLC يتم استخلاص الأفلاتوكسين من العينة بواسطة أى مذيب عضوى مائى، تنقية المستخلص فى البداية بواسطة أحد الطرق مثل التوزيع بين المذيبات solvent partition، الترسيب بالمعادن الثقيلة، العمود الكروماتوجرافى أو عمود الترشيح . يوجد كثير من العوامل تؤثر على الفصل والتقدير الكمى بواسطة الـ TLC.

1. TLC plates

تستعمل سليكا جيل على وجه الحصر لتحليل الأفلاتوكسين بواسطةTLC، وتستعمل سليكا جيل لفصل الأفلاتوكسين الأربعة الرئيسية B_1 , B_2 , G_1 , G_2 عن بعضها الآخر وعن المواد المتداخلة معها ، ويتم هذا الفصل بواسطة سليكا جيل مع استخدام acetone / chloroform كصورة متحركة mobile phase. تختلف أنواع سليكا جيل فى إبقائها للأفلاتوكسين، فمثلا فى حالة استعمال ايثير الإيثايل كمظهر فان الهجرة قد لا تحدث على بعض أنواع سليكا جيل ولكن تحدث على أنواع أخرى. سليكا جيل قد تكون طبقة رقيقة على الزجاج أو الألومنيوم أو البلاستيك، فائدة الألمنيوم أو البلاستيك أنه يمكن قطعها إما قبل أو بعد الفصل الكروماتوجرافى بعد ظهور أو استخلاص الـ spots للتحليل أو التنقية . يكون اللوح الزجاجى بسمك 0. 5 cm وطول 20 × 20 cm وذلك ليكون قادراً على التداول والتنظيف والتسخين مع إعادة الاستعمال. يجب تنظيف الزجاج ليكون خالياً من متبقيات القلويات المستخدمة كجواهر للتنظيف والتى يمكن أن تلتصق بالزجاج وتؤدى الى تحطيم الأفلاتوكسين، ويتم إزالة متبقيات القلويات جيداً بواسطة الشطف بواسطة حامض معدنى مخفف والماء. تم تحسين ألواح TLC لتكون منتظمة السمك والصلابة لتستعمل لفصل الأنواع الأربعة من الأفلاتوكسين B_1 , B_2 , G_1 , G_2 بطرقة جيدة . عموما فإن ألواح TLC المحضرة يدويا أو المجهزة صناعيا يتم تنشيطها عند 80-100 °C لمدة ساعة ، وتخزن فى مجفف لتفادى التلوث بالرطوبة الجوية والملوثات مثل الأحماض على وجه الخصوص .

2. المواد القياسية المرجعية : Reference standard

يمكن الحصول على الأفلاتوكسين القياسية من عدة مصادر، يجب تحضير المحلول القياسى بنفس المذيب المستعمل فى استخلاص العينه مثل acetonitril: benzene بنسبة (98 : 2). تعرض الأفلاتوكسين لضوء UV فى صورة مادة صلبه أو محلول فى نفس المذيبات مثل البنزين، كلوروفورم، إيثانول، ميثانول أو الماء. يجب حفظ المحاليل القياسية فى الظلام وعلى درجة حرارة منخفضة فى حالة عدم الاستعمال .

3. Spotting of the TLC plate

يذاب المستخلص بكميات مناسبة للتطبيق تكون مكافئة لـ 0.01 gm من العينة الأصلية المتوقع أن تحتوى 100 ug / kg – 5 من أفلاتوكسين B، ومن مستخلص مكافيء لعينة 5 gm للنواتج مثل اللحوم، اللبن، البيض ومتوقع أن تحتوى على أقل تركيز ما بين 0. 02 – 10 ug / kg من أفلاتوكسين B_1 or M_1. تستعمل محقنه بالميكروميتر، ويتم تطبيق 1 - 50 ul solution /spot والتى أصبحت عملية قياسيه للأفلاتوكسين. التطبيق بمعدل أقل من 1 ul بدون استخدام جهاز خاص يسبب أخطاء كبيرة، أما استعمال أحجام كبيرة قد الى أن يريق أو ينشر البقعة ويزيد من فرصة فساد سليكا جيل. يجب تطبيق العينه بسرعة تحت ضوء خافت بدون تلف السطح وفى جو رطوبة نسبيه أقل من 60%، ولكن عند الرطوبة الأعلى فإن سليكا جيل يمكن حمايتها كالآتى :

ا) تدفئة الألواح أثناء الإضافه spotting .

ب) تغطية سليكا جيل بلوح زجاجى نظيف .

ج) الإضافه spotting تحت غاز خامل فى spotting chamber .

د) الإضافه spotting على الألواح بعد موازنتها بمذيب ما .

عموما التحكم فى الرطوبة مهم جداً، حيث أن الرطوبة العالية جداً تؤدى الى ظهور ضعيف وبطيء. التحكم فى الرطوبة يقلل فرصة تلوث الألواح حتى لا يحدث تلاشى للأفلاتوكسين. يتم التقدير الكمى للأفلاتوكسين بواسطة التقدير المرئى لدفعات من المحلول القياسى (1 , 2 , 3 and 5 ul) بتركيزات 1, 1, 0.2, 0.2 ug / ul على

التوالى من B_1, G_1, B_2 and G_2. يتم تطبيق نفس الأحجام من محلول المستخلص مع تركيز الأفلاتوكسين فى المستخلص تقريبا بالنسبة للقياسى منها، بمعنى تقدير كمية الأفلاتوكسين فى المستخلص بواسطة التطابق المرئى لشدة ضوء الفلوريسنت فى عينة المستخلص مع القياسية.

٤- Development of the chromatogram

إختيار المذيبات أو مخلوط المذيبات قد يكون على مدى واسع من الإختيار للأفلاتوكسينات الفردية والمكونات المتداخلة فى المستخلص لتحسين نتائج التحاليل. فمثلا مخلوط acetone / chloroform المتعادل يستخدم لاختبار كفاءة سليكا جيل، والمظهرات developers الحامضيه مثل benzene – acetic acid – methanol تعطى ثبات إظهار resolution ممتاز للأفلاتوكسينات B_1, B_2, G_1 and G_2 كل من الآخر ومن كل المواد المتداخلة الأخرى فى المستخلص ومن المواد الحامضيه. بعض المواد الأخرى تتحرك الى أعلى R_f نسبيا للأفلاتوكسين عنه مع acetone/chloroform. ومن أمثلة المظهرات التى يحدث فيها الفصل بواسطة التوزيع partition هى:

benzene –ethanol – water&ether – methanol – water

المحتوى الرطوبى لسيليكا جيل له تأثير أقل مع المذيبات المائية عنه مع مخلوط المذيبات بدون ماء .

5 – التقدير الكمى : Quantitation

تقدير الأفلاتوكسين مرئياً أو بواسطة مقياس الكثافة يتم بواسطة قياس شدة ضوء الفلوريسنت لبقعه الأفلاتوكسين وهى الطريقة العملية الأكثر استعمالا. التقدير المرئى يتم باستخدام طريقتان:

الأولى: عمل سلسلة تخفيف من المستخلصات المجهولة والقياسية للنقطة التى عندها ضوء الفلوريسنت يكون غير قابل للاكتشاف (حوالى 0.1-0.5ng للأفلاتوكسين B or G). نقطة الانقراض (الإخماد) تعتمد على شده ضوء UV ، سيلكا جيل والمذيب المتبقى فى سيلكا جيل بالاضافه الى البقع المندمجة وكمية ونوع المواد المتداخله فى المستخلص وظلمة الحجره والدقه المرئيه للملاحظ.

الثانيه: التقدير المرئى يشمل مقارنه شده الفلوريسنت لبقع المستخلص مع بقع الأفلاتوكسين القياسية. إذا كانت شدة البقعة المجهولة بين بقعتى المادة القياسية، فإنها تقع كنصف الفرق فى حجم أو كميات البقعتين فمثلا 2.5 إذا كانت بين 2 and 3 ng. إذا وقعت العينة خارج مدى العينات القياسية فإنه يجب تخفيفها أو تركيزها ثم يعاد الكروماتوجرام.

تطبيق المستخلصات على ألواح TLC :
Application of Extracts onto TLC plates:

يتم تطبيق المحاليل على الـ Chromatoplate مستعملا micro-pipettes والتى يجب تغييرها بعد كل إضافة لكل محلول وتكون الـ spots الناتجة صغيره بقدر الإمكان (بقطر أقل من 5mm).

الكروماتوجرافى إحادى البعد :
Uni-dimensional Chromatograph:

*** إظهار الألواح : Development of plates**

يظهر اللوح بواسطة إيقافها ثابتة فى إناء الكروماتوجرافى المحتوى على المذيب المناسب بعمق ليس أكثر من ½ cm . فى حاله بعض نظم المذيبات فان إناء الكروماتوجرافى يجب تركه وقتاً قصيراً للتوازن قبل إظهار الألواح. وقت الإظهار يكون 20 دقيقه تقريباً معتمداً على الظروف المحيطة (سطح المذيب solvent front تكون على بعد 10 cm على الأقل من خط الأساس). يتم فحص اللوح الجاف والذى تم إظهاره تحت الـ UV بطول موجة طويل 365 nm، ويفضل أن يكون فى مكان مغلق محاط بمرشح قوى .

** الكشف والتقدير : Detection and Estimation

ا) طريقة المقارنة مع القياسى :
Comparison of standards technique :

يقارن شدة الضوء الفلوريسنت للـ spots عند R_f للـ B_1 فى العينة مع B_1 الـ spots ، يتم تعيين أى من الـ spots للعينة تتوافق مع أحد من القياسية ويسجل الأحجام المقابلة . اذا كانت شدة بقعة العينة تقع بين تقع بين بقعتان متجاورتان من المادة القياسية فيسجل متوسط حجم السائل للبقع القياسية . إذا كانت البقع الأصغر حجما من العينة لدرجة أن شدتها لا يمكن توافقها مع المادة القياسية ، فيجب تخفيف مستخلص العينة وإعادة الكروماتوجراف .

- يتم حساب تركيز الأفلاتوكسين B_1 (ug / kg) فى العينه من المعدلة التالية :

$$\text{Aflatoxin B content (ug/kg)} = \frac{S \times Y \times V}{W \times Z}$$

S = حجم (ul) أفلاتوكسين B القياسى المكافىء لشدة الحجم Z (ul)

Y = تركيز أفلاتوكسين B_1 القياسى (ug / ml)

Z = حجم (ul) من مستخلص العينه اللازم ليعطى شدة فلوريسنت مقارنة لحجم (S (ul لـ B القياسى .

V = حجم (ul) من المذيب اللازم لتخفيف المستخلص النهائى .

W= الوزن (gm) فى العينة الأصلية فى المستخلص النهائى .

يلاحظ من الـ TLC plate أن :

S (ul) standard = Z (ul) sample

وزن الأفلاتوكسين فى العينة (Z (ul = وزن الأفلاتوكسين القياسى S (ul)

ويمكن حساب وزن الأفلاتوكسين فى البقع القياسية (S (ul كالآتى :

Conc. of standard = Y (ug / ml) = Y/1000 ug / ul

$$\text{Weight of aflatoxin in S ul} = \frac{Y \times S}{1000} \text{ ug}$$

أما وزن الأفلاتوكسين فى بقع العينة Z (ul) :

$$\text{Weight of aflatoxin in Z ul} = \frac{Y \times Z}{1000} \text{ ug}$$

وعلى ذلك فإن حجم (V (ul من المستخلص النهائى يحتوى على

$$\frac{Y \times S \times V}{1000\ Z} \text{ ug}$$

وهذا يكون وزن أفلاتوكسين النهائى الفعال (W) من مادة البدايه .

وبالتالى وزن أفلاتوكسين فى 1gm من المادة الأولية = $\frac{Y \times S \times V}{1000\ Z\ W}$

ووزن أفلاتوكسين فى 1kg من العينة الأولية =

$$\frac{Y \times S \times V}{Z \times W} \text{ ug/kg(ppb)}$$

مثال مستعملا طريقة الطريقة القياسية :

20 gm من ground nuts، تم إزالة الدهون منها لكى تعطى 10 gm والتى استخلصت بـ 100 ml كلوروفورم، 10 ml ماء. يرشح المستخلص ويجفف منه 50 ml حتى ½ ml، ثم يتم تطبيق المحلول بأحجام 2, 5 and 10 ul من هذا المحلول وتطبق على الـ chromatoplate مع 2, 5 and 10 ul من محلول B_1 القياسى. بعد الإظهار وفحص الـ chromatoplate تحت ضوء UV تبين أن البقعة 5 ul من المستخلص كانت مساوية لشدة 2ul من المادة القياسية.

S = 2 ul, Y = 0.66 ug / ml , V = 0.5 ml or 500 ul , Z = 5 ul , W = 9.18gm

$$\text{Weight} = \frac{Y \times S \times V}{Z \times W} \text{ ug/kg(ppb)} = \frac{0.66 \times 2 \times 500}{5 \times 9.18} = 14.38 \text{ppb}$$

ب) طريقة التخفيف حتى نقطة النهاية :

b) Dilution – to – extinction technique:

يتم البحث عن الضوء الفلوريسنت الأزرق تحت ضوء UV (365nm) فى العينة عند R_f مقابل للأفلاتوكسين B (كلا من B_1, B_2) فى المرجع الأساسى. الهدف من هذه الطريقة هو عمل تخفيف للمستخلص مثل 15, 20 ul تطبق على TLC plate لكى

تعطى ضوء فلوريسنت للأفلاتوكسين B يكون مرئياً. واذا ظهر لون فلورسنتى أزرق على الكروماتوجرام فى جميع التخفيفات فإن المستخلص يخفف بدرجة كافية لإعطاء فوق نقطة النهاية extinction point. المحاولة والخطأ والخبرة تكون قادرة على تصحيح التخفيف لكى يمكن تقدير نقطة النهايه. والظروف المستعملة لهذه الطريقة تكون قياسية:

١- يغطى اللوح باليد hand coated.
٢- سمك اللوح = 0. 5 mm
٣- يتم الـ plate الى مسافة 10 cm بين سطح المذيب وخط الأساس base line
٤- يوضع الـ plate على مسافة ثابتة (30 cm من لمبة الـ UV)
٥- قوة لمبة الـ UV حوالى 125 وات.

تحت هذه الظروف فإن أقل وزن لأفلاتوكسين B يعطى فلوريسنت مرئياً تماماً يكون (0.0004 ug) 0.4 ng بينما لأفلاتوكسين G يكون الوزن (0. 0003 ug) 0. 3 ng

ويمكن حساب محتوى الأفلاتوكسين كما يلى :

$$\text{Alfatoxin B} = \frac{0.4 \times D}{W \times V}\ \text{ug/gm(ppm) or}\ \frac{0.4 \times D}{W \times V} \times 1000\ \text{ug/gm(ppb)}$$

and

$$\text{AlfatoxinG} = \frac{0.3 \times D}{W \times V}\ \text{ug/gm (ppm) or}\ \frac{0.3 \times D}{W \times V} \times 1000\ \text{ug/kg (ppb)}$$

D = الحجم الكلى (ml) اللازم لتخفيف المستخلص حتى يكون الفلوريسنت مرئيا تماما فى حجم (V ul) من عينة المستخلص.

V = حجم الدفعة من العينة والذى عندها يلاحظ الفلوريسنت على الكروماتوجرام المظهر .

W = وزن العينة الأساسية (gm) الموجودة فى المستخلص .

على وجه العموم يمكن تلخيص طرق الكشف عن السموم الفطرية والتقدير كالاتى :

1- Thin – Layer Chromatography (TLC)

هذه الطريقة تقليدية وعامة لتحليل السموم الفطرية بسبب أنها تحلل عدد كبير من العينات فى وقت زمنى قصير، مع العلم أنه يوجد كثير من المراجع والأبحاث العلمية على تطبيق TLC لتحليل السموم الفطرية، وطبقة سليكا جيل هى الأكثر استعمالا للـ TLC. تستعمل TLC لكل من الأغراض الكمية وشبه الكمية للسموم الفطرية لقلة تكاليف العمل وسهولة التعرف على المركبات المستهدفة بواسطة التحليل الضوئى بالـ UV.

2- High Performance Liquid Chromatography (HPLC) :

التحليل الحديث للسموم الفطرية يعتمد أساساً على HPLC مستخدماً مواد مدمصة adsorbents مختلفة معتمدة على التركيب الكيميائى للسموم الفطرية. وعلى أساس القطبية فان الفصل والتنقية يتم باستعمال normal and reversed – phase columns، فمثلا ochratoxine A (OTA) ,AFT toxins لها بالفعل فلورسينتى طبيعى ويمكن اكتشافها مباشرة بواسطة HPLC – Flame Ionization Detector (HPLC – FID).

3- Gas Chromatography (GC)

يستعمل GC بطريقة منتظمة لتحليل عينات الطعام. ويستعمل كل من:

Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) or Flame Ionization Detector (FID)

للكشف عن النواتج المتطايرة، ويمكن التقدير المباشر للمركب OTA بواسطة الـ GC بسبب أنه مركب غير متطاير .

4- Capillary Electrophoresis (CE)

الاكتشاف الفردى للمواد السامة المتقاربة يلزمه طريقة فصل دقيقة. الفصل المباشر الفعال للمكونات قد يعتمد على الهجرة المعتمدة على

الشحنة والكتلة فى أى مجال كهربى. الـ Buffer solutions تحتاج فصل سريع فى الـ Capillary electrophoresis

5 – Mass Spectroscopy (MS)

يفضل لجميع السموم الفطرية استعمال الطريقة المعتمدة على MS بسبب التخصص العالى .

6 – Ambient Ionization Mass Spectroscopy

طريقة حديثة تم تطويرها والتى تسمح بحدوث التأين عند الضغط المحيط وخارج جهاز الـ mass spectrophotometer

يوجد جهازين من الناحية التجارية تم تطويرها تعتمد على طرق مختلفة Desorption Electro – Spray Ionization (DESI) والتحليل مباشر فى زمن حقيقى .

7 – Electrochemical Immunoassays (ElIAS)

تستخدم الـ ElISA التقدير اللونى والفلورميترى colorimetric or fluorimetric endpoint، ويمكن أيضا استعمال مواد تفاعل substrates مع النواتج التى يمكن قياسها electrochemically. فائدة الـ Electrochemical assays تشمل تكاليف منخفضة للإلكترودات، ووجد تطبيق الكترود معتمد على الـ sensor لكل من AFM1 فى اللبن، AFB1 فى الشعير .وسنابل الأرز، OAT فى القمح.

8 – Lateral Flow Immunochromatography

يتم تطبيق عينة من المستخلص المحتوية السم الفطرى على شريط والتى تهاجر بطوله وترتبط مع المعقد المضاد للسم الفطرى. الجزيئات المحتوية السم الفطرى وغير المحتوية تهاجر الى الى خط الاختبار، السم الفطرى غير المتحرك يمسك فقط الجزيئات الحرة free particles والتى تكون خط ملون مرئى بينما الجزيئات المحتوية السم الفطرى تستمر فى الهجرة. فى وجود السم الفطرى فى العينة عند تركيز أعلى من نقطة عدم الاستمرار فى الشريط (وهى تشبع الجزيئات بالسم الفطرى) فإن الجزيئات المحتوية السم الفطرى

سوف تفشل فى الارتباط بخط الارتباط، والعكس بالعكس. شدة اللون فى خط الاختبار تتناسب طردياً تركيز السم الفطرى.

9 – Bioluminescent whole – cell Biosensors

أحد طرق الكشف وتقدير متبقيات estrogenic mycotoxins فى اللبن ومنتجاته وذلك مثل تقدير zearalenone mycotoxins والميتابوليت الخاص به مثل :

α and β – zearalanol , α and β – zearalanone ,

من ناحية أخرى فإن Piezoelectric immune sensors هو أحد الطرق البسيطة والسريعة وعالية الحساسية للكشف عن وتقدير AFB1 .

الباب الثامن

علاقة الإصابة الحشرية بالتلوث الفطري

Insects infection and Molds

الباب الثامن

علاقة الإصابة الحشرية بالتلوث الفطرى
Insects infection and Molds

توجد دراسات على الذرة فى المخازن فيما يتعلق بالإصابة الفطرية بالفطر *A. flatus* والتلوث بالأفلاتوكسين وخشرات الحبوب المخزونة، فالإصابة الحشرية والإصابة الفطرية بـ *A. flatus* لهما علاقة قوية بالكثافات العالية من سوسة الحبوب weevils حية أو ميتة وبعض الأنواع الثانوية الأخرى. عندما يكون عدد حشرة السوس عالياً فإن التدخين يؤدى الى إنتاج حشرات ميتة كثيرة العدد والتى يتكاثر عليها الفطر *A. flavus* منتجاً كميات كبيرة من اللقاح الخاص بالفطر.

على أى الأحوال يجب العمل على تقليل الفاقد ما بعد الحصاد فى الحبوب المخزونة وبحث العوامل الحشرية المؤثرة على تلف الحبوب وعلاقتها بانتشار الفطريات المنتجة للأفلاتوكسين، ودور الآفات فى الحقل والمخازن التى تؤدى الى توفير الظروف التى تشجع نمو وتكاثر الفطر أثناء التخزين، كذلك فإن الظروف المناخية فى مناطق نمو الذرة لها صلة بكل من نمو الفطر وزيادة تعداد حشرات الحبوب المخزونة، وبسبب مشاكل التلوث بالأفلاتوكسين والإصابة الحشرية فإن المحاصيل قد تواجه بخفض أسعارها، ورفضها فى الموانى عند التصدير والاستيراد، ويرجع التأثير الثلاثى للفقد الى الحشرات، الفطريات، السموم الفطرية التى تدمر وتفسد الحبوب .

الحشرات والمفصليات تلعب دورا هاماً كعوامل للفطريات المنتجة للسموم الفطرية، حيث أن الإصابة الحقلية للذرة قبل الحصاد تكون مصحوبة بدرجة كبيرة بالإصابة بالفطر *A. flavus* ودرجة التلوث بالأفلاتوكسين. العلاقة الرئيسيه مع الآفات الحقلية مثل ناخرات الذرة الأوربية European corn borer والقادرة على الضرر بقوالح الذرة وتلف الحبوب تؤدى الى الإصابة بفطر *A. flavus* من أى مصدر للعدوى مما يؤدى الى حمل جراثيم الفطر الى سنابل القمح أو كيزان الذرة. من ناحية أخرى فإن الدور الرئيسى لسوسة الذرة فى

العدوى بالفطر وما يتبعه من التلوث بالأفلاتوكسين يحدث أساسا أثناء التخزين، والتعداد الكبير من السوس قد يغير الظروف فى الحبوب المعبأة لكى تشجع نمو الفطريات فى الحبوب المخزونة. السبب الرئيسى لنمو الفطر وإنتاج الأفلاتوكسين يكون واضحاً فى الذرة عالى الرطوبة عند الحصاد، وعلى ذلك فإن الحاجة لتجفيف الحبوب مهمة جداً ويجب تشجيع التجفيف بعد الحصاد عند مستوى الحقل .

لوحظ أن عدم فحص أو متابعة تعداد سوسة الذرة قد يؤدى الى نمو جراثيم *A. flavus* بكميات كبيرة تساعد على العدوى، كلما زاد التعداد فإن السوس يهاجر الى مناطق أخرى مثل حبوب ذرة أخرى تنقل للمخازن ، وحتى اذا كان هذا الذرة جافاً (15% محتوى رطوبى) فان تواجد السوس يمكن أن يغير الظروف داخل الحبوب المعبأة بواسطة زيادة درجة الحرارة والرطوبة خلال نشاط الميتابوليت حتى يصل الى حد نمو *A. flavus* ، وهذا قد يفسر أن العبوات المخزنة بطريقة جيده قد تصبح مصابة بدرجة كبيرة بفطريات المخازن خلال فترة قصيرة.

عموما عند 15% رطوبة فإن حبوب الذرة تعتبر جافة وقابلة للتخزين وهذا فى الحقيقة الحد الأدنى لنمو فطريات المخازن ولكن الإصابة بسوسة الحبوب يمكن أن تغير الظروف وترفع المحتوى الرطوبى وتسبب تلفاً بدرجة أكبر من المتوقع، وضرر الحبوب بواسطة تغذية السوس يعتبر الجانب الأولى للنمو الفطرى. وعلى ذلك فإن تخزين الذرة 15% رطوبه يكون آمناً لفترة طويلة ما لم يوجد عوامل أخرى تعمل على تغيير نوعية الحبوب. ويمكن القول أن حشرات الحبوب المخزونة الأخرى بالإضافة الى سوسة حبوب الذرة قد تساعد على توزيع جراثيم الفطر *A. flavus* فى حبوب الذرة .

على أى الأحوال، عند محتوى رطوبى آمن أو أكثر يكون الذرة عرضة للهجوم بسوسة الذرة مع زيادة سريعة تالية فى كل من عدد السوس، ومحتوى الرطوبة، درجة الحرارة، فطريات المخازن والحشرات الثانوية. ومن الضرورى مكافحة آفات المخازن لخفض لفقد فى الحبوب المخزونة والحفاظ على نوعيتها وصفاتها الحيوية، وقد يتم ذلك عن طريق تدخين العبوات أو أكوام الحبوب المصابة بدرجة قوية والذى قد تهاجم المجموع الحشرى لحظياً، ولكن يتم

بالفعل ضرراً كبيراً، حيث أن الحبوب تم تلفها بواسطة الحشرات التى أحدثت فتحات للمهاجمة الفطرية، مع ملاحظة أن الفطريات الموجودة فعلاً داخل لب الحبوب أو القوالح لا تتأثر بواسطة التدخين. ويتم غزو الحشرات الميتة بواسطة الفطر *A. flavus* وينتج كميات كبيرة من العدوى .

المخازن التى تسمح للحشرات بتكوين أعداد كبيرة فقد تؤدى الى مشاكل لها وللمزارع وأى معدات مخزنيه فى نفس المنطقة، والحشرات المهاجرة تصيب المحاصيل المجاورة، ولذلك يجب مكافحة المجموع الحشرى والأعداد منخفضة. المخازن المصابة بدرجة عالية تعمل كملاذ أو ملجأ للحشرات فى المبنى نفسه لدرجة أن العبوات قد تصاب مرة ثانية بسرعة بعد عملية المكافحة بالتدخين.

هناك موضوع هام هو الزراعة العضوية organic agriculture والتى تعرف بأنها زراعة المحاصيل بدون استخدام مبيدات فطرية أو حشرية وبالتالى تنتج منتجات طبيعية جيدة وصحية، وأدى ذلك الى زيادة الطلب على الغذاء العضوى، وتكاليف هذا الغذاء عالية للإنتاج التجارى عن المحاصيل العادية. ولكن هناك حقيقة أن هذه الزراعة العضوية قد تصاب بالحشرات أو الفطريات الى مدى كبير عن الزراعة العادية، والإصابة بالحشرات قد تؤدى فى كثير من الأحوال الى الإصابات الفطرية التى تنتج سموم فطرية mycotoxins وعلى ذلك يكون هذا الغذاء ملوثاً بمستويات عالية من السموم الفطرية.

من المعروف أن ناخرات سيقان الذرة تحطم حبوب وكيزان الذرة وهذا التحطيم يكون مصحوباً بعفن الفيوزاريوم، ويعتبر فطر *Fusarium verticillioids* هو أحد الفطريات السائدة على البذور المصاحبة للذرة المستهلك بواسطة الإنسان والحيوان على مستوى العالم.

قياس (MRS (Maximum Residue Concentration أثبت أن مستويات السم الفطرى patulin فى عصير التفاح المصنوع من من تفاح نامى بالطريقة العادية يتراوح 250 – 4000 µg / l بينما المستوى فى عصير التفاح النامى بالزراعة العضوية وصل 45000 µg / l.

البيئة المناسبة لنمو الفطريات المنتجة للسموم الفطرية:
الظروف المؤدية لنمو الفطريات المنتجة للسموم الفطرية وتلوث الطعام بالأفلاتوكسين والوسائل الأكثر فعالية لمكافحة ومنع هذا التلوث لأى مواد غذائية عن طريق التحكم فى البيئة لمنع نمو العفن. يوجد عدد من المقاييس البيئية مثل :

1. الغلاف الجوى : Atmosphere
كل أنواع العفن متطفلة هوائية ولا يمكن أن تنمو فى غياب الإكسجين ولذلك لمنع التلوث الفطرى لحبوب الذرة ، الفول السودانى، والحبوب الصغيرة الأخرى ، يجب تخزينها تحت ظروف لا هوائيه وحتى فى وجود النيتروجين أو ثانى أكسيد الكربون .

2. درجة الحرارة : Temprature
أحد الطرق الأخرى لمكافحة أو منع انتاج السموم الفطرية هو درجة حرارة التخزين تكون 10 ˚C أو أقل.

3. الرطوبة: Moisture
التحكم فى الرطوبة هو أحسن وسيله اقتصادية لمنع نمو العفن وإنتاج السموم الفطريه. وعلى ذلك فإنه يجب تجفيف الذرة على أقل من 1.45% رطوبة لتجنب التلوث بالأفلاتوكسين وكذلك بالنسبة للفول السوادنى وبالنسبة للحبوب الصغيرة فانه يلزم محتوى رطوبى حوالى 13%.

ومن هنا يمكن القول أن :
- نمو وتطور الحشرات ، القراد ، الفطريات ، السموم الفطرية يمكن التحكم فيها بواسطة درجة الحرارة .
- يمكن تربية معظم الحشرات بسرعة عند 25-33 ˚C ، ولا يمكن ذلك تحت 15 ˚C.
- سوس الحبوب يمكن يتوالد ببطىء عند 12 ˚C .
- الحشرات لا يمكن أن تتغذى وتموت ببطىء عند أقل من 5 ˚C.

- القراد والفطريات يمكن أن تزيد (ببطىء جداً) تحت 5 °C فى الحبوب الرطبة.
- تكوين السموم الفطرية mycotoxins فى معظم الأحوال بين 15 – 25 °C.

التداخل بين الحشرات والسموم الفطرية:

Interaction between insects and mycotoxins

الحشرات تتلاقى مع السموم الفطرية عندما تستهلك الثمار المصابة بالفطريات والتواجد المشترك للحشرات التى تتغذى على الحشائش herbivorous insects يساعد على التطور والنمو البيئى. الفطريات يمكن أن تصيب الحشرات بإصابات تؤدى الى أعراض مثل نقص التغذية تأخير النمو، تقليل نجاح التزاوج حتى الموت. الفطريات يمكن أن تتعايش مع الحشرات بواسطة التبادل المشترك الذى يؤدى الى تحفيز الهضم والكفاءة.

وهذا النوع من التداخل ينتج من التلاقى بين الحشرات والفطريات المنتجة للسموم الفطرية.

الحشرات نفسها ليست عائل للفطريات المنتجة السموم الفطرية ولكن كلا من الحشرات وهذه الفطريات تتشاركان نفس النبات العائل.

الحشرات يمكن أن تخدم كناقل للفطريات المنتجة للسموم الفطرية وتسهيل الدخول الفطرى لعائلها النباتية فالحشرات تأخذ فائدة من الفطريات لحمايتها ضد أعدائها الطبيعية ومعالجه مكونات النبات لزيادة القدرة على هضمها.

الحشرات مثل ثاقبات ساق الذرة *Elasmopalpus lignoselbus*، دودة جذور الذرة *Diabortica undecimpunctata houardi* ، والنمل الأبيض *Microterms spp.* وبعض الحيوانات غير الحشرية مثل القراد والنيماتودا تشارك إصابة الـ *Aspergillus* فى النباتات.

H.zea (Lepedoptera, Noctuidae) دودة كيزان الذرة تسهل بدرجه كبيره تلوث الذرة بالسموم الفطرية ولها كثير من العوائل

النباتية ويوجد أكثر من 100 عائل نباتى مثل القطن والذرة تصاب بالفطريات *Aspergillus* fungi .

فى حالة الذرة تبدأ اليرقات فى البداية بالتغذية على الأجزاء الناعمة من الذرة ثم تحطم الحبوب والكيزان. الجروح أو القطع يسهل دخول الفطريات الى كوز الذرة.
ويوجد اعتقاد يوضح المشاركة القوية بين الإصابة الحشرية والتلوث بالسموم الفطرية. فمثلا المستويات العالية من أفلاتوكسين وجدت فى الذرة المصاب بالحشرات عنه فى غير المصاب، حبوب الذرة ذات الجدار السميك يكون بها مستويات منخفضة من الأفلاتوكسين والحبوب والكيزان التالفة ميكانيكيا تكون أكثر إصابة بواسطة الفطريات.
وتعتبر المكافحة الفعالة للحشرات أحد الطرق لتقليل تلوث المحاصيل بالسموم الفطرية. مكافحة *H.zea* بواسطة المبيدات الحشرية تؤدى إلى نقص التلوث بالافلاتوكسين فى الذرة. مقاومة العائل النباتى للحشرات يعتبر طريق إقتصادى لتقليل التلوث بالافلاتوكسين. استعمال الـ محاصيل transgenic Bt المقاومة للحشرات تقلل كلا من التلف المباشر بواسطة تغذية الحشرات وتلوث المحاصيل بالافلاتوكسين وهذا الصنف من المحاصيل يمنع المهاجمة بالـ *H.zea* ويقلل التلوث بالسموم الفطرية.
ذبابة الفاكهة تهاجم الفاكهة المحفوظة مثل ثمار الموالح المصابة بفطريات *Aspergillus*، معاملة البيئة التجريبية بتركيز عالى من AFB1 (10ppm) سبب موت كل يرقات العمر الأول حديثه الفقس، ولقد لوحظ تأثير آخر على *Drosophila melanogaster* عند تركيز منخفض من AFB1 شاملة من البيض حتى حيوية الأفراد البالغة والخصوبة، وكان أقل تركيز 674 ppb الذى يفوق LD_{50}. ووجد أن AFB1 له سمية على يرقات حرشفية الأجنحة مثل *Heliothis virescens* حيث أن 10µg/g AFB1 تسبب موت بنسبة 100% خلال 8 أيام. فطريات *Aspergillus* التى تصيب الوجبات الغذائية قد تسبب موت أو تأخير نمو دودة الحرير *Bombyx mori* . وجد أيضاً أن 20 ng/g من AFB1 يسبب

موت يرقات العمر الأول حديثه الفقس للحشرة *H.zea* بينما يرقات العمر الخامس فان تركيز 200 ng/g من AFB1 يؤخر فقط التطور بدون حدوث موت عل معدل التعذر pupation rate أو على وزن العذراء بينما 1 µg / g AFB1 يقلل الوزن العذرى بمعدل 29.3 % ويقلل معدل التعذر بمقدار أقل من الثلث، ولقد لوحظت تشوهات فى العذارى بعد يرقات العمر الخامس المعرضة لتركيز 1 µg / g AFB1 وفشل تطور النمو العذرى .

ميكانيكية إزالة سمية السموم الفطرية بواسطة الحشرات :

Detoxification mechanism of mycotoxins by insects:

بالرجوع الى حساسية النباتات للإصابة بالـ *Aspergillus* ويقابله تغذية الحشرات على هذه النباتات المصابة فقد أظهرت الحشرات ميكانيكية هامة لعمل metabolic detoxification تشمل صورتان : two phases

Phase I عن طريق إضافة مجاميع وظيفية فعالة الى الجزىء الأساسى والتى ترتبط بعد ذلك تبادلياً مع أجزاء قابلة للذوبان فى الماء مثل sulfate , glutathione glucuronic acid, وغيرها وبذلك تتحول المادة السامة المحبة للذوبان فى الدهون lipophilic الى مادة محبة للذوبان فى الماء hydrophilic ويحدث لها إخراج .

ميتابوليت AFB1 الناتجه بواسطه يرقات دودة البرتقال أبوسرة تشمل أساساً AFL وكميات صغيره من AFB2 , AFM1. وجد أن AFB1 يتم تنشيطه حيوياً إلى مشتقات أكثر سميه بواسطة cytochrome P450s فى *H.Zea* .

عموماً فإن من الإنزيمات المسئولة عن التحولات الحيوية للأفلاتوكسين خلال الأنواع هو :
cytochrome P450 monoxygenases (P450s).

أكسدة AFB1 تؤدى إلى تكوين ميتابوليتات عديدة القطبية تشمل AFP1, AFB2a, AFQ1, AFM1 وكما هو معروف قبل ذلك فإن كل من أفلاتوكسين B2a, Q1, M1 هى نواتج إضافة هيدروكسيل hydroxylation على AFB1 ولها تأثير سام حاد منخفض ولها تأثير طفرى عن AFB1. أماAFP1 فهو ناتج إزالة مجموعة ميثايل على الإكسجين O-demethylation of AFB1 وهو الميتابوليت الرئيسى فى بول الـ rats, mice, monkeys التى تعرض لوجبات بها AFB1.

AFB1 يتم تنشيطه بواسطه P450s لتكوين AFBO الذى يمكن أن يتداخل مع DNA لتكوين ناتج اضافه N^7 - guanyl يؤدى إلى تثبيط تخليق DNA أو يؤدى إلى بداية موقع الطفرات التى تنشط بـ protooncogenes ويثبط الجينات الموقفة للسرطان. والنواتج المنشطة يمكن أيضا أن ترتبط مع البروتينات بتأثير مباشر على الأنزيمات.

Fig. (7) Detoxification and bioactivities of aflatoxin B1. (Eaton and Gallagher, 1994)

Phase II: إنزيمات إزالة السمية مثل:
Glutathione S-transferase (GSTs) , glucoside transferase and cytochrome reductase .

من الإنزيمات الهامة فى إزالة سميه الأفلاتوكسين كما فى الشكل السابق (شكل 7). GST يتوسط ارتباط AFBO مع GSH المختزل يكون هو الطريق لإزالة سميه ABF1 فى كثير من الثدييات. GST يعمل بواسطة ارتباط الجلوتاثيون (GSH) مع مواد محبه للشحن السالبة لإنتاج ميتابوليت أكثر حبا للماء وقابلة للإخراج.

فى القوارض حساسية AFB1 مرتبطة عكسيا مع نشاط GST فى الكبد ناحية ABFO.
وجد أن AFB1 قد يتحول إلى aflatoxicol (AFL) بواسطة إنزيم AFB1 aldehyde reductase والذى يعود ثانيا إلى AFB1 بواسطة إنزيم dehydrogenase.

الباب التاسع

السموم الفطرية فى اللحوم ومنتجات اللحوم المصنعة

Mycotoxins in Meat and Processed Meat Products

الباب التاسع

السموم الفطرية فى اللحوم ومنتجات اللحوم المصنعة
Mycotoxins in Meat and Processed Meat Products

كما هو معلوم السموم الفطرية هى مواد سامة تفرز بواسطة الفطريات وتشكل مجموعة غير متجانسة من الميتابوليت الثانوية لها تأثيرات سامة وصيدلية قوية ومتنوعة فى الإنسان والحيوان.

تم التعرف على أكثر من 300 ميتابوليت ثانوى ولكن حوالى 30 منهم حازوا الاهتمام الحقيقى على صحة الإنسان والحيوان، وتنتج الجزيئات أثناء نمو العفن الفطرى على النباتات فى الحقل أو أثناء فترة التخزين، ويمكن أن توجد كملوثات طبيعية لكثير من الماد الخضرية وأساسا الحبوب وأيضاً الفاكهة ، المكسرات والأعلاف، بالإضافة إلى مكونات الطعام المطلوب لاستهلاك الإنسان والحيوان.

في بعض البلاد الأفريقية وجد أن تحليل مستوى التلوث الفطري لعينات من اللحوم المجففة في الشمس والتى يتم فردها مكشوفة على أرضية من الأسمنت مما يسمح في الغالب بالتلوث بالغبار. وعلى اى الأحوال فان الإصابات الفطرية على اللحوم الطازجة قد تتم عن طريق التلوث من المياه والهواء والأسطح والبيئة المحيطة بالسلخانة بالإضافة الى الأدوات المستخدمة أثناء الذبح وعمليات تجهيز اللحوم للبيع. وكذلك عدم النظافة الكافية والتطهير غير الكافى لمناطق العمل في مصانع تجهيز اللحوم وللحيوانات المذبوحة والآلات ومعدات العمل المستخدمة تؤدى بدرجه كبيره للتلوث بفطريات العفن المنتجة للسموم. وكما هو معروف معظم أهم السموم الفطرية تنتج بواسطة الناتج من جنس كل من *Aspergillus, Penicillium, Fusarium*، ويمكن تقسيم الجزيئات الناتجه تبعاً للأنواع الفطرية المنتجة لها فى الجدول التالى.

جدول (5) : السموم الفطرية و الفطريات المنتجة المصاحبة لغذاء الإنسان والحيوان :

Mycotoxins	Producing Fungi
Trichothecenes	*Fusarium graminearum, F. culmorum ,F. trcinctum , F. sporotrichioides , F. poae, F. acuminatum*
Zearalenone	*Fusarium graminearum, F. culmorum, F.*cookwellense
Patulin	*Penicillium expansum , Aspergillus clavatus ,Byssochlamys nivea*
Ergot alkaloids	*Claviceps purpuurea , C. paspali , C. africana*
Citrinin	*Aspergillus terreus , A. caneus , A. niveus ,* *Penicillium verrucosum , P.citrinum , P. expansum*
Cyclopiazonic acid	*Aspergillus flavus , A. versicolor , A. tamari ,* *Penicillium camemberti .*
Sterigmatocystin	*Aspergillus flavus, A. versicolor , A. nidulans*
Sporidesmins	*Pythomyces chartarum*
Stachyboyryo – toxins	*Stachyboyryos chartarum , S. atra*
Endophyte toxins	*Neotyphodium coenophialum , N. nolii*
Tremorgenic toxins	*Penicillium* roqueforti , *P.crustosum, P. puberrelum ,* *Aspergillus clavatus, A.fumigatus*

بعض السموم الفطرية تكون hepatoxic مثل aflatoxins وبعضها immunotoxic مثل trichothecenes, fumonisins والبعض الآخر له estrogenic potential مثل المركب

zearalenone، ولقد اعتبرت سموم فطرية أخرى كمسببات سرطانية أو لها خواص سرطانية.

جدول (6) خواص السمية لبعض السموم الفطرية :

Mycotoxins	Toxicity	Effects
Ochratoxin A	Nephrotoxic , Genotoxic , Immunomodulation	Effect on protein synthesis, Inhibition of ATP production
Trichothecenes (T-2 toxin, DON, etc.)	Haematotoxicity , Immunomodulation skin toxicity	Impact on protein synthesis, Apoptosis of haematopoietic stem cells and on immune cells , Alteration of immunoglobulin
Zearalenone	Fertility and reproduction troubles	Bioactivation by reductase , Link to estrogenic receptors
Fumonisin B1	Lesion of central nervous system , Haematotoxicity , Genotoxic , Immunomodulation .	Inhibition of ceramide synthesis, Modification of sphinganine / sphingosins ratio , Alteration of cell cycle

المصدر الرئيسى لتعرض الإنسان المستهلك للسموم الفطرية هو الحبوب ومنتجاتها. وتعرض الإنسان المستهلك الى هذه المركبات بطريق غير مباشر قد يرجع الى وجود بقايا ملوثة فى الطعام المجهز من حيوانات تم تغذيتها على أعلاف ملوثة. بالنظر الى metabolic pathway فإن المتبقيات قد تكون المادة السامة

الأساسية أو الميتابوليت الذى يحتفظ بكل أو جزء من الخواص السامة للجزىء الأساسى، وعلى ذلك فإن المرور خلال الحيوان animal filter قد يمثل عملية إزالة للسمية أو يؤدى الى ظهور مركبات أكثرسمية للإنسان المستهلك .ومن هنا المنتجات المشتقة حيوانياً قد تمثل ناقل للسموم الفطرية، وعلاوة على ذلك الثبات الكبير لهذه المركبات يجعلها تقاوم عمليات الطهى العادية و / أو التعقيم .الأفلاتوكسين AFB1 الذى يستهلك بواسطة أبقار اللبن يتم تمثيله جزئياً إلى جزىء يسمى AFM1 (milk aflatoxin). أثبتت الدراسات أن السموم الفطرية قد تدخل طعام الانسان ليس فقط من خلال علاقة المادة الخضراء والإنسان ولكن أيضاً خلال طريق أكثر تعقيداً خلال السلسلة الغذائية :

Vegetal → animal feed → animal tissues and derived products → human consumer

أثبتت الدراسات أن AFB1 يعتبر جوهر قوى مسبب للسرطان يؤدى الى hepatocarcinoma أولية وهذه الخاصية مرتبطة مباشرة بناتج تمثيله وظهور مشتق epoxide عالى الفعالية. يرتبط AFB1 – epoxide مع DNA، ومكان الارتباط هو موضع N^7 فى الجوانين. الاختلافات فى ميتابولزم AFB1 داخل أنواع الحيوانات قد يفسر التغير فى قوة الاستجابة للقوة السرطانية للسموم الفطرية.

AFM1 يمكن اعتباره genotoxic agent وقوته كمسبب سرطاني أقل من AFB1. الوكالة العالمية لبحوث السرطان International Agency for Research against Cancer **قامت بتقسيم**: AFB1 فى المجموعة (1) المسببة للسرطان، AFM1 فى مجموعة (2B) من الجزيئات المسببة للسرطان فى الحيوانات ومن الممكن أن يسبب السرطان فى الإنسان، AFG1 فى المجموعة (3) مركبات غير مسببة للسرطان. وضع الاتحاد الأوربى نظاما لحدود تلوث الأفلاىتوكسين (ug / kg).

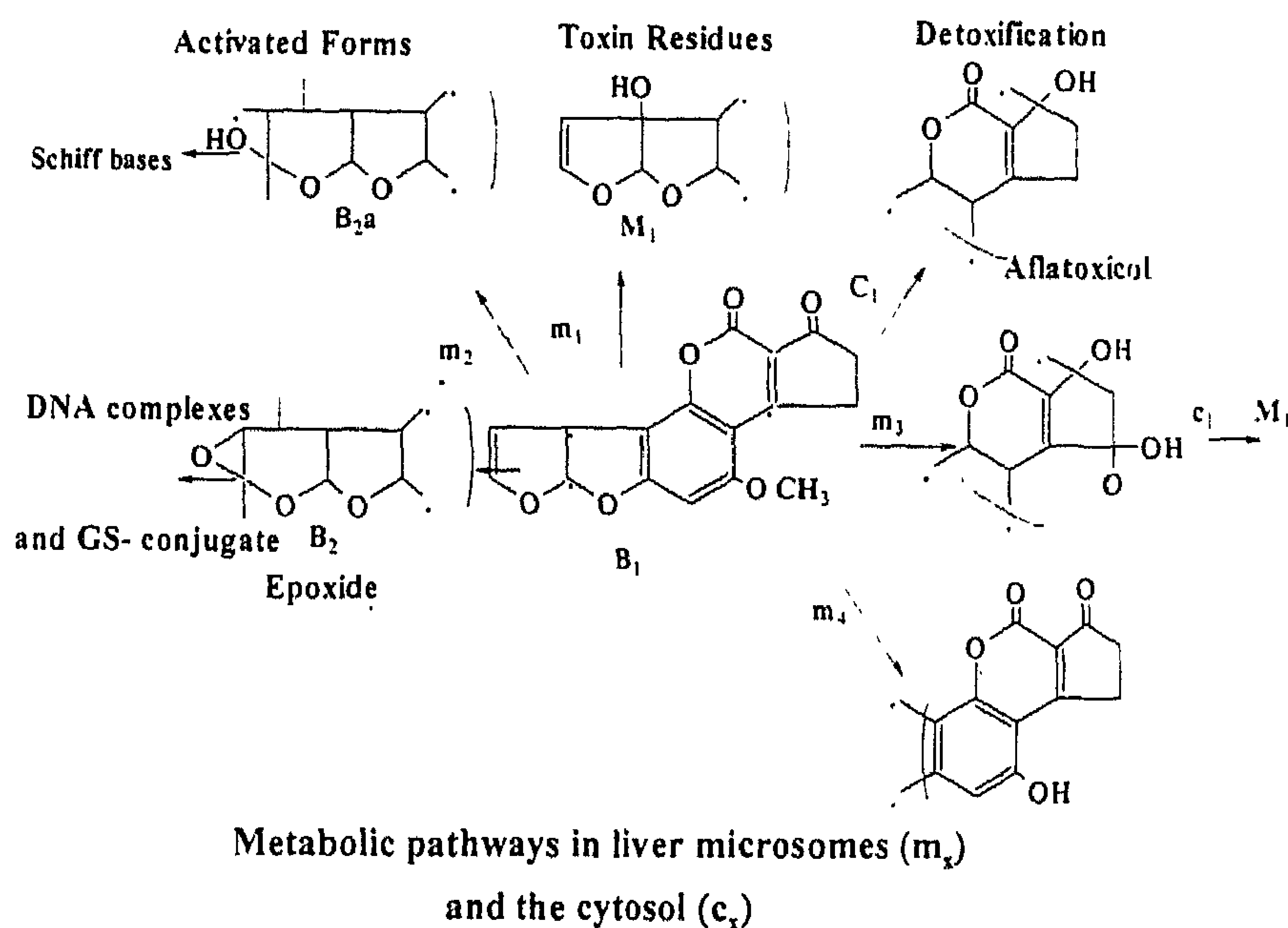
جدول (7): حدود التلوث بالافلاتوكسن طبقا للاتحاد الاوربى:

Destination	Toxin	Matrix	Maximal concentration (ug / kg)
Human food	Aflatoxin B1	Groundnuts + grains + dry fruits	2.5 or 8 depending on the product and the processing step
		Cereals	2 or 5 depending on the product and the processing step
		Spices	5
		Cereal – based foods for young children	0.1
	Aflatoxin B1+B2+C1+G2	Groundnuts + grains + dry fruits	4,10 or 15 depending on the product and the processing step
		Cereals	4 ,10 or 15 depending on the product and the processing step
		Spices	10
	Aflatoxin M1	Milk	0.05
		Preparation for young children	0.025
Animal food	Aflatoxin B1	Raw material for animal feeds	20

يحدث الامتصاص فى الأمعاء الصغيرة أما فى البلازما يرتبط AFB1 بقوه مع الألبومين وجزء من هذا الارتباط يكون تعاونيا Covalent. ومن هنا يذهب AFB1 إلى الكبد والذى فيها الجزء الأكبر من المادة السامة يحدث له ميتابولزم ونسبة % 10 – 1 من AFB1 تظل ثابت للجزيئات الكبيرة. يعتبر AFB1 جزء محب

للدهون والذى يدخل الصور التقليدية I,II من عملية التحويل الحيوية.
الصورة الرئيسية للميتابوليت I هى Epoxide :
hydroxyl compounds AFM1, AFQ1, AFP1,
hydrogenated and hydroxylated molecule: AFB2a

- ميتابوليت الصورة الهامة II لمشتق الـ epoxide هى المرتبطة تبادليا Conjugated مع GSH:
والـ glucorono-and sulfo conjugated forms of AFM1,AFQ1, AFP1



Metabolic pathways in liver microsomes (m_x)
and the cytosol (c_x)

Fig(8) Phase 1 metabolism of aflatoxin B1 (Paterson,1977)

تكوين الـ epoxide هى عمليه تنشيط حيوى ترجع إلى الفاعلية العالية جداً لهذا الجزى مع جزيئات الكبد الكبيرة. والطريق الآخر للميتابولزم هو إزالة السمية detoxification يؤدى إلى مركبات بدون سميه مثل AFQ, AFP1, AFB2a أو التى تحتفظ ببقايا سمية مثل aflatoxicol, AFM1.

جدول (8) : متبقيات الأفلاتوكسين فى أنسجة الحيوان .

Animal species	Dose and duration of exposure tissues	Tissues	Residues (µg/kg)	Metabolites
Poultry				
Turkey	50 and 150 µg/kg feed for 11 weeks	Liver	0.02-0.009 and 0.11- 0.23	AFB1+ AFM1
		Kidney	0.02-0.04 and 0.11-0.21	AFB1+ AFM1
		Gizzard	0.04-0.16 and 0.01-0.12	AFB1 (AFM1‹ 0.01)
Turkey	50 and 150 µg/kg feed for 11 weeks and 1 week with toxin – free feed	Liver Kidney Gizzard	‹ 0.01 ‹ 0.01 0.04 – 1.9 and0.09-0.24	AFB1+ AFM1 AFB1+ AFM1 AFB1 (AFM1‹ 0.01)
Quail	3,000 µg/kg feed for 8 days	Liver Muscle	7.83± 0.49 5.31 ± 0.22	Free and conjugated AFB1
Duck	3,000 µg/kg feed for 8 days	Liver Muscle	0.52±0.04, 0.44±0.16 , 2.74±0.15, 3.81±o.25, 0.21±0.09,0.14±0.05	Free and conjugated AFB1 Free and conjugated metabolites
Chicken	3,000 µg/kg feed for 8 days	Liver Muscle	0.15±0.09, 0.01±0.01, 1.54±o.36, 0.94±0.04	Free and conjugated AFB1 Free and conjugated metabolites
Hen	3,000 µg/kg feed for 8 days	Liver Muscle	0.34±0.03, 0.23±0.08, 2.38±0.36, 4.04±0.1	Free and conjugated AFB1 Free and conjugated metabolites
Laying	10,000 µg/kg feed for 7 days	Eggs	0.28±0.1 0.08±0.03, 0.24±0.07, 0.25±0.09	AFB1 and aflatoxicol AFB1 and total aflatoxicol

Laying hen	2,500 µg/kg feed for 4 weeks	Liver Eggs	4.13±1.95, ‹ 0.5 , ‹ 0.01	AFB1 AFB1 and AFM1
Chicken	55 µg/kg feed for 9 days	Liver	0.26 and 0.02	AFB1 and AFM1
Chicken	4,448 µg/kg feed for 9 days	Liver	1.52 and‹ 0. 1	AFB1 and AFM1
Adult Pigs	395 µg/kg feed for 14 days	Liver Kidney Muscle	1.242±0.44, 1.606±0.63, 0.16±0.22	AFB1, AFM1 and aflatoxicol AFB1, AFM1 and aflatoxicol AFB1, AFM1 and aflatoxicol
Growing mixed breed swine	400 µg/kg feed for 10 weeks	Liver Kidney Muscle	1.13 0.83 ND	Toyal aflatoxins +AFM1 Toyal aflatoxins +AFM1 Toyal aflatoxins +AFM1
Growing mixed breed swine	800 µg/kg feed for 10 weeks	Liver Kidney Muscle	2.81 1.21 0.64	Toyal aflatoxins +AFM1 Toyal aflatoxins +AFM1+AFB1 + AFB2
Gross-breed pigs	524 µg/kg feed for 35 days	Liver Kidney Muscle	2.01 3.951 0.443	AFB1+AFB2 +AFM1 AFB1+AFB2 +AFM1 AFB1+AFB2 +AFM1

أثبتت دراسات عديدة أن اللحوم الجافة المقددة المملحة قد تكون ملوثه بالسلالة المسببة للسمية الفطرية *A. flatus* خصوصاً عندما يتم تصنيع النواتج فى البلاد ذات المناخ الحار. علاوة على ذلك فان ظروف التصنيع قد تسمح بتخليق أفلاتوكسين، ولذلك لأهمية الصحة العامة يجب تقدير الناتج المحتمل من أفلاتكوسين B1 فى عمليات تجهيز وتصنيع اللحوم. ولقد أثبتت الدراسات أن تكرار تلوث اللحوم المصنعة بالأفلاتوكسين B1 كان منخفضاً ومستوى المادة السامة فى اللحوم كان فى العادة أقل من 10 ng / gm، على أى الأحوال ليس من الواضح أن أفلاتكوسين B1 قد تم إنتاجه أثناء عملية تصنيع اللحوم أو كان موجوداً من قبل بالمستوى المتبقى فى العضلات. وفى الحقيقة فيما يبدو انه لا توجد علاقه بين وجود سلالة *A. flatus* المسببة للسمية وتلوث عينات اللحوم بالأفلاتوكسين.

التلوث المعتاد فى التوابل والمواد الإضافية المستعملة فى تصنيع اللحوم يمثل أيضا مصدراً للسموم الفطرية. ووجد أن استعمال التوابل الملوثة بسلاله العفن المسببة للسمية كماده فى عمل السجق قد تؤدى الى تلوث ثانوى للناتج النهائى بالأفلاتوكسين ولذلك تظهر أهمية اللحوم كمصدر لتعرض الإنسان لمثل هذه الملوثات.

من ناحية أخرى فإن قدرة أنواع كلا من:

Asprigillus, Penicillium على أنتاج Ochratoxin A (OTA) تجعله من الملوثات واسعة الانتشار فى كثير من المواد الغذائية وهذا المركب سام للكلى فى جميع أنواع الحيوانات ويحطم فسيولوجيا الخلايا، وتمثل اللحوم ومنتجاتها حوالى 3% كمصدر لـ OTA فى وجبات الإنسان، ووجود السلالات الفطرية على منتجات اللحوم الجافة يؤدى إلى ارتفاع التلوث المباشر لهذه الأطعمة.

Zearalenone (ZEA) هو أحد السموم الفطرية له تأثير هرمونى estrognic effect وينتج بواسطة أنواع الفيوزاريوم، وهذا المركب يمتص بسرعه بعد تناوله بالفم.

وإفراز الـ ZEA والميتابوليت الخاصة به فى البول يؤكد أن معدل امتصاصه عالى. ويمكن حدوث ميتابولزم له فى القنوات الهضمية بواسطة كل من micro flora and intestinal mucosa. وهذا الميتابولزم يؤدى إلى ظهور:

وقد α- and β- zearalenol and α- and β- zearalcnon تتغير نسبة تكوين الميتابوليت طبقاً لنوع الحيوان. ومن المعروف أن α - zearalenol له قابلية عالية للـ estrogenic receptors وعلى ذلك فإن ظهوره يعتبر تنشيط حيوى bioactivation.

عموماً إنتاج كل من:

trichothecene, zearalenone, fusariotoxins لم يتم ملاحظته فى اللحوم المصنعة بسبب الظروف البيئية اللازمة لنمو الفيوزاريوم ومسببات السمية وهى أساسا نشاط المياه. عموماً إكتشاف السموم الفطرية فى المنتجات ذات الأصل الحيوانى يكون له علاقة بالظروف البيئية الموجودة سابقاً .

جراثيم العفن الفطرى تتواجد دائماً فى البيئة وتعطى قدرة للعفن الفطرى على الحياة حتى فى الظروف الصعبة، لذلك من المستحيل عملياً إزالتها من الطعام. الظروف أثناء إنتاج اللحوم المختمرة fermented raw meat (مثل درجة الحرارة المحيطة، الرطوبة النسبية، توزيع التيارات الهوائية) تكون مناسبة لنمو وتطور الـ microscopic filamentous fungi، المواد المعطية للنكهة خاصة التوابل spices التى تضاف الى اللحوم يمكن أن تساعد على توزيع التلوث بالعفن الكلى فى المنتج النهائى. السبب الرئيسى لنمو العفن الفطرى فى الـ fermented meat products يشمل أى عملية تجفيف غير مناسبة تؤدى الى نشاط عالى للماء داخل المنتجات الكلية أو على سطح المنتج فقط، بالإضافة الى ظروف التخزين غير المناسبة، وفى مثل هذه الحالات قد تنبت الجراثيم وتنمو الفطريات الخيطية المجهرية (microscopic filamentous fungi) حاملة السمية وتنتج مواد سامة (metabolites) وتعرض صحة المستهلك للخطر، ولذلك يجب العمل على منع نمو العفن الفطرى فى أماكن ذبح الحيوانات (السلخانات) وفى لحوم الحيوانات المذبوحة، وكذلك استعمال حجرات تصنيع ومخازن حديثة ونظيفة.

عموما وجد أعداد كبيرة من الفطريات الخيطية المجهرية microscopic filamentous fungi فى التوابل spices مثل الفلفل الأسود المطحون، جوزة الطيب nutmeg، مسحوق الثوم، الكراوية المسحوقة، ويعتمد مستوى التلوث على الفصل الموسمى،

حيث يكون أعلى فى فصل الصيف. ووجد أيضاً انتقال السموم الفطرية الى منتجات الدجاج مثل البيض واللحم.

من ناحية أخرى فى دراسات عن وجود الأفلاتوكسين وفطريات العفن المنتجة للأفلاتوكسين فى اللحوم الطازجة والمصنعة فى مصر، وجد أن اللحوم المصنعة مثل :

beef - burger, hot – dog, kubeba, sausage, luncheon

تحتوى أكبر عدد من من مسببات العفن بالمقارنة باللحوم الطازجة والمعلبة.

- تم اكتشاف aflatoxine B1 بمعدل 8ug/ kg فى الـ beef – burger، 35 ug/kg فى عينات من الفلفل الأسود.
- تم اكتشاف aflatoxine B1, B2 فى كل من :
  ١- Kubeba بمعدل 150 ug B1/kg، 25 ug B2 /kg
  ٢- hot – dog بمعدل 5 ug B1/kg، 2 ug B2 /kg
  ٣- sausage بمعدل 7 ug B1/kg، 3 ug B2 /kg
  ٤- luncheon بمعدل 4 ug B1/kg، 2 ug B2 /kg

- وجد فى عينات من الكركم turmeric معدلات من 8 ug G1/kg، 12 ug B1 /kg
- وجد فى عينات من الكزبره coriander معدلات من 2 ug G1/kg، 8 ug B1 /kg

فطريات العفن المنتجة للأفلاتوكسين والأكثر تواجداً والمعزولة من كل من منتجات اللحوم والتوابل هى:

Aspergillus flaves , A. parasitic

الباب العاشر

منع وخفض السموم الفطرية

Prevention and Decrease of Mycotoxins

الباب العاشر

منع وخفض السموم الفطرية
Prevention and Decrease of Mycotoxins

أولا : إستراتيجية خفض مخاطر السموم الفطرية :

التحكم فى المحتوى الرطوبى ودرجات الحرارة للسلع المخزونة سوف يحدد كثيراً درجة النشاط الفطرى. المحتوى الرطوبى يعتمد أساساً على محتوى الماء عند الحصاد ويمكن تعديله بواسطة التجفيف، التهوية، وتقليب الحبوب قبل وأثناء التخزين. وبعيداً عن طرق تعديل البيئة الفطرية، يوجد كثير من كثير من المركبات التى قد تثبط نمو العفن، فمثلا الأحماض العضوية مثل حمض البروبيونيك prop ionic acid يكون الأساس لكثير من المواد المضادة للفطريات التجارية فى صناعة طعام الحيوانات. السموم الفطرية ثابتة جداً ولكن يوجد كثير من العمليات تقلل من مستوى التلوث مثل معالجة السلع الغذائية قبل تعليبها للاستهلاك الانسانى.

طرق إزالة السموم الفطرية من الحبوب الملوثة تشمل :

معاملات فيزيائيه وكيميائية وبيولوجيه، عمليات إزالة القشور decupling، الغسيل، عزل الكميات الملوثة من الحبوب أو الكيزان غير الملوثة، عمليات تصنيع ومعالجة الغذاء، المعاملة بالمواد الكيميائية مثل كبريتيت الصوديوم sodium bisulfite، الأوزون، الأمونيا.

أصبح من الضرورى فى صناعة الغذاء والعلف إضافة جواهر ارتباط للسموم الفطرية لكى تمتص هذه السموم بكفاءة عالية. ويوجد مواد مختلفة تم بحثها كجواهر ترتبط بقوة بالسموم الفطرية تشمل :

Synthetic cation or anion exchange zeolites, bentonite, hydrated sodium calcium aluminninosilcate (HSCAS) and yeast cell wall preparations.

(hydrated sodium calcium aluminiosilicate)HSCAS
له قابلية عالية لامتصاص الأفلاتوكسين وله القدرة لتكوين معقد ثابت مع المادة السامة وبالتالى يقلل تواجدها الحيوى ويقلل بدرجة كبيرة التأثير المعاكس وتراكم المادة السامة فى النسيج.

أظهر Yeast cell wall – derived glucomannan فاعلية لإدمصاص السموم الفطرية الاتيه:
aflatoxin, zearalennone, fumoisins

الإضافات الغذائية التى تثبت الأنواع البكتيرية من *Eubacterium* يمكن أن تؤدى الى إزالة سمية الـ trichothecenes بواسطة إزالة مجموعة الـ epoxide (*in vivo*) .

وجد أن إضافة مواد رابطه mycotoxins binders الى المواد الغذائية الملوثة قد تقلل من تأثير السموم الفطرية حيث أن مادة الارتباط binders تزيل التلوث بالسموم الفطرية من العلف بواسطة الارتباط بها بقوة وذلك لمنع التداخل السام للحيوانات المستهلكة ولمنع امتصاص السموم الفطرية فى القنوات الهضمية وذلك يعتبر منع بالإضافة الى العلاج .

ولإبطال التأثيرات غير المقبولة للسموم الفطرية يجب استعمال المعايير التالية لتقييم وظيفة أى من الـ binding additive :

1– التحقق من كفاءة المكونات النشطة بواسطة بيانات علمية.
2– معدل تداخل منخفض النشاط.
3– الثبات على مدى واسع من الـ pH .
4– الكفاءة العالية لإدمصاص تركيزات عالية من السموم الفطرية.
5– القابلية لإدمصاص تركيزات منخفضة من السموم الفطرية.
6– التأكد من التداخل الكيميائى بين السموم الفطرية والمادة المدمصه.
7 – بيانات *in vivo* لكل السموم الفطرية الرئيسية .
8 – مكونات غير سامة للبيئة الأخرى .

كل السموم الفطرية قد لا ترتبط مع تلك الجواهر وبالتالى فإن الطريق الأخير للتحكم فى السموم الفطرية يكون بواسطة تثبيط أو إلغاء نشاطها باستخدام وسائل إنزيمية مثل: esterase, epoxidase، السلالات البكتيريه *Eubacterium* BBSH797، الخميرة من النوع *Trichsporon mycotoxinvorans* حيث يمكن خفض السموم الفطرية قبل الحصاد.

يوجد طرق أخرى للتخلص من السموم الفطرية تشمل الفصل الفيزيائى، الغسيل، الطحن، المعاملة بالحرارة، استعمال الجواهر الكيميائية والبيولوجية، ولقد أثبتت طرق المعاملة بالإشعاع فعلية كبيرة ضد إنتاج كل من العفن والسموم.

ومن ناحية اخرى يوجد مواد ماصة قوية potential absorbent materials تستعمل لإزالة السموم الفطرية هى:

Activated carbon, alumina – silicates (Clay, bentonite, montmorillonite, Zeolite, phyllosilicate, etc.), Complex indigestible carbohydrates (Cellulose, polysaccharides in the cell wall of yeast and bacteria such as glucomannans, peptidoglycans, ...), and synthetic polymers such as cholestryamine and polyvinylpyrrolidone and derivatives.

وجد أن الألياف الغذائية الغير قابلة للهضم لها قوة امتصاص للسموم الفطرية. فمثلا ألياف ألفا ألفا alfa alfa fiber قللت تأثير كل من T-2 toxin, zearalenone فى الفئران.

وجد أن الخلية الحية *Saccharomyces cerevisiae* تقلل تأثير الافلاتوكسين فى الوجبات المشوية broiler dict. المادة الليفية من جدار خليه الخميرة وجدلها قوة ارتباط مع السموم الفطرية المختلفة.

Esterified glucomannan polymer المستخلص من جدار خلية الخميرة يرتبط مع كل من aflatoxin, ochratoxin, T – 2 toxin بصورة فردية أو مجتمعة. كما وجد أنه عند إضافة هذا

المركب الى وجبات من لبن البقر ملوثة بالأفلاتوكسين قد قلل متبقى الافلاتوكسين بدرجة ملحوظة، وكذلك هذا المركب له قدرة على الارتباط مع كثير من السموم الفطرية.

بعض البكتيريا مثل سلالات من lactic acid bacteria, propionbacteria, bifidobacteria لها قدرة على الارتباط مع السموم الفطرية مثل الافلاتوكسين وبعض نواتج الفيوزاريوم (zeaalenone,*in vitro*) الـ Cholestyramine resin يستعمل فى أدوية الانسان لخفض الكوليسترول ووظيفته امتصاص أحماض الصفراء bile acids، وهذا المركب يمتص كل من fumonisns, zeaalenone كما وجد أنه يخفض الـ ochratoxin فى بلازما الفئران المستهلكة لهذا السم الفطرى ويزيد إفرازه فى البول.
عموماً فإن كل المواد الرابطة أو الماصة يجب أن تمنع أو توقف سمية الحيوان بواسطة السموم الفطرية بدرجة ملحوظة ولا يكون لها تأثيرات خطيرة على الحيوان أو يكون تأثيرها عديم القيمة على الأقل.

طرق معادلة وازالة التلوث بالسموم الفطرية :
Neutralization / Decontamination Methods of Mycotoxins:

١. الأكسدة :Oxidation

يتم إزالة السم الفطرى trichocecene باستعمال جوهر مؤكسد .
المعاملة بمحلول 0.25 % NaOCl – 0.025 % NaOH لمدة 4 ساعات يثبط النشاط الحيوى للسم الفطرى T – 2 toxin، وكذلك تمت التوصية بإستعمال NaOCl كجوهر لإزالة التلوث من T – 2 toxin وأى trichocecenes أخرى. وقد اقترح أيضا أكسدة بعض مشتقات الـ trichocecenes بالأوزون عند الرابطة المزدوجة بين 10 – C9 بإضافة ذرتين أكسجين. بالإضافة لذلك فإن حالة الأكسدة عند الـ allylic carbon فى الموضع –8 تتأثر بسهولة بالأكسدة.

الأكسدة البيولوجية biological oxidation تكون أكثر تخصصيا عن الأكسدة الكيميائية. فالأكسدة إلتى تتم بواسطة إضافة مجموعة هيدروكسيل hydroxylation فى جسم الحيوانات تؤدى الى إضافة مجموعة هيدروكسيل عند الموضع C – 3 للـ trichocecenes المستبدل عند C8. من ناحية أخرى، مجموعة الهيدروكسيل عند C3 فى DON تتأكسد من الـ hydroxylation الى كيتون بواسطة الكائنات الدقيقة. أكسدة T – 2 toxin بواسطة إضافة مجموعة هيدروكسيل وتكوين:

3' – hydroxyl T – 2 toxin (3' – OH T – 2) and /or 3'-hydroxyl HT-2toxin (3'- OH HT – 2) والتى وجدت فى شجيرات الـ *Baccharis spp.* وفى بعض أنواع الحيوانات مثل الفئران، القرود، الأرانب، الدجاج، الخنزير والبقر.

لقد لوحظ تكوين كل من:

3' – OH HT – 2 and 3' – OH T – 2 فى الكائنات الدقيقة فى وجود NADPH.

وجد أن خليط من تربة ميكروبية متحصل عليه من تربة حقول الحبوب والحشرات ومصادر أخرى كان قادراً على تحويل الـ DON الى 3- Keto – DON.

٢. الإختزال : Reduction

الإختزال يمكن أيضاً أن يغير التركيب الجزيئى والنشاط الحيوى للسموم الفطرية من مجموعة الـ trichocecenes فمثلا كبريتيت الصوديوم $NaHSO_3$ يحول DON الى DON – sulfonate الأقل سمية بدرجة كبيرة عن DON. تم اختبار جواهر الإختزال مثل حمض الأسكوربيك، $NaHSO_3$، $Na_2S_2O_5$ المستعملة كإضافات للمواد الغذائية لمعرفة قدرتها على تحويل الـ DON فى الحبوب. وجد أن المعاملة بـ ascorbic acid 2 % عند 22 °C لمدة 24 ساعة قللت تركيز الـ DON بنسبة 50% فى القمح.

٣ . التحلل المائى : Hydrolysis

معظم الـ trichocecenes تحتوى مجاميع أسيتايل ، وعدد ومواضع مجاميع الأسيتايل يؤثر على سمية هذه المركبات وبالتالى فإن إزالة الأسيتايل deacetylation عن طريق التحلل المائى يكون هام جداً بسبب أن ذلك يغير فى سمية الـ trichocecenes .

٤ . إضافة جزىء ماء (الهيدرة) : Hydration

تفاعل الهيدرة هو إضافة أيونات H^+ , OH^- الى ذرتى كربون الرابطة المزدوجة . وجد أن أحد سلالات *Aspergillus sp.* كانت قادرة على تحويل 94.4 % من الـ DON الى مركب كيميائى له وزن جزيئى أعلى بقيمة 18 عن الـ DON المقابل بعد أسبوعين تحضين .

ثانيا : منع السموم الفطرية Prevention of mycotoxins :

منع تكوين السموم الفطرية يكون أساسياً نظراً لوجود طرق قليلة للتغلب كلية على مشاكل تواجدها. الضرر الناتج من الفطريات والحشرات له أهمية كبيرة فى إثارة نمو العفن وتكوين السموم الفطرية فى الحقل لذلك فإن الأصناف المقومة للأمراض الفطرية أو أضرار الحشرات تنتج سموماً فطرية فى الحقل بدرجة قليلة جداً، والأصناف التى تتكيف مع مناطق النمو، ونظام الرى سمكن أن تقلل من تكوين السموم الفطرية فى الحقل. وعند الحصاد يجب تجنب سقوط المواد لأن التلامس مع التربة يزيد السموم الفطرية، وكذلك تزيد السموم الفطرية مع الحصاد المتأخر وفى نهاية فترات فصل المطر.

يزيد مستويات السموم الفطرية فى الحبوب التالفة ولذلك يجب صيانة أجهزة الحصاد لتجنب تلف الكيزان والحبوب حتى يتم تخزين حبوب سليمة وجافة. ومن المعلوم أن تركيز السموم الفطرية يكون عالياً فى

الحبوب المكسورة والناعمة والتالفة ولذلك يجب التنظيف وإزالة التالف لتقليل تركيزات السموم الفطرية من الغذاء والعلف.
بعد الحصاد يجب عدم السماح بأن تكون الرطوبة فى الحبوب عند مستوى لا تزيد عن 18 % – 15، وقد يوجد نمو عفنى قليل فى الحبوب عند أقل من 15% رطوبة ولكن التجفيف الى مستويات أقل من 13% يساعد على التغلب على تركيزات الرطوبة غير المنتظم خلال الكمية الكلية للحبوب.

درجات الحرارة العالية تزيد كمية الرطوبة الحرة (water activity) فى الحبوب والتى تكون السبب الأول لنمو العفن فى المخزن، ولذلك يجب أن يكون المخزن مجهزاً بدرجة كافية للتخلص من هجرة أو تكثيف أو تسرب الرطوبة.

الحبوب المخزنة لأكثر من أسبوعين يجب حفظها بالتهوية حيث أنه بمجرد بداية نمو العفن الفطرى فى مساحات منفصلة فإن الرطوبة الناتجة بواسطة الميتابولزم تكون كافية لتنبيه انتشار نمو العفن الفطرى وهنا تكون التهوية هامة حيث تقلل هجرة الرطوبة وانتقالها كما تقلل تركيزات الرطوبة غير المنتظمة.
فى أماكن التخزين يجب حماية المواد الغذائية والعلف من الأمطار أو أى مصادر مياه أخرى، ويجب أن تكون مجهزة بحاجز بخار vapor barrier على الأرض لتقليل الرطوبة. فى حالة وجود سلع مبللة مخزنة بالقرب من أخرى جافة فإنه يجب حماية السلع الجافة من التلوث الرطوبى. عموماً يجب تنظيف أماكن التخزين للتخلص من مصادر الـ inoculation، ويجب مراقبة السلع المخزنة على فترات منفصلة لتقدير حدوث ارتفاع حرارى وتكوين العفن. ويمكن استعمال الأحماض العضوية كماد حافظة للمواد الغذائية العالية الرطوبة وذلك للتخزين المناسب. وجد أنه من الصعب جعل مستويات الرطوبة فى التبن أو القش منخفضة بقدر كاف لمنع نمو العفن الفطرى الذى قد ينمو فى التبن عند مستويات رطوبة أعلى من 15% – 12.
منع السموم الفطرية فى العلف المحفوظ silage للحصول على علف مقبول، يتم بواسطة منع التلف فى أول الأمر بواسطة خفض الـ

pH بسرعة والتخلص من الأكسجين. وعموماً للحصول على علف مقبول يتم من خلال تطبيق مايلى :

- الحصاد عند مستوى رطوبى مناسب.
- القطع المنتظم عند طول مناسب.
- تملأ مخازن الـ silo بسرعة. (silo هو مبنى اسطوانى خشبى أو أسمنتى عالى محكم الإغلاق يحفظ فيه الحبوب أو علف الدواب).
- تعبئة العلف silage بدرجة جيدة لطرد الهواء. (silage هو علف محفوظ فى الـ silo).
- إستعمال مساعد فعال للتخمر والتغطية الكاملة.

تسرب الهواء بعد حفظ العلف فى الـ silo قد يسمح بنمو كائنات تتحمل الأحماض مع زيادة الـ pH ونمو العفن الفطرى، فمثلا عفن البنسيليوم قادر على احتمال الحامض وقد ينمو فى وجود أى هواء. ومن ناحية أخرى فإن النشاط الميكروبى أو أى إضافات قد تقلل الـ pH بسرعة وبالتالى تقلل نمو العفن الفطرى وتكوين السموم الفطرية. كل من الأمونيا، حمض البروبيونيك، حمض السوربيك sorbic acid، النشاط الميكروبى أو الأنزيمى للاضافات فى العلف أظهرت فعالية جزئية لتثبيط نمو العفن الفطرى. فمثلا الأمونيا المضافة يمكن أن تقلل نمو العفن الفطرى من خلال التثبيط المباشر، أما الأحماض العضوية فتوفر الحموضة اللازمة للحفظ بدون الاعتماد على الأحماض الناتجة ميكروبياً وتستعمل الأحماض العضوية لمعامله الكتله الكليه من العلف أو المعاملة الأختياريه للطبقات الخارجية من الـ silo.

المكافحة البيولوجية لفطريات العفن المنتجة للسموم الفطرية

Biological control of mycotoxin - producing molds:

أمراض ما بعد الحصاد postharvest diseases التى تنتج بواسطة فطريات المخازن المسببة للعفن تؤدى الى مستويات كبيرة للفقد ما بعد الحصاد، وتم تقدير فقد بنسبة 25% – 20 فى الفاكهة والخضر التى تم حصادها بسبب أمراض ما بعد الحصاد. الفقد بعد

الحصاد فى الدول النامية يكون أكثر خطورة بسبب عمليات النقل والتخزين غير المناسبة وهذا فى الغالب يجعل البيئة ملائمة للنمو الفطرى فى المخزن. ومعظم هذه الفطريات تنتج ميتابوليت خطيرة تسمى mycotoxins سامة بطريقة حادة على الإنسان والحيوان والنبات.

التلوث بالسموم الفطرية قد يحدث فى الحقل قبل أو بعد الحصاد أثناء نقل وتخزين المحصول، ومركبات السموم الفطرية مقاومة بدرجة عالية للمعاملة الكيميائية والفيزيائية، وبمجرد وجودها فى الأطعمة فإنها تصمد أثناء التخزين والتصنيع. لذلك لمنع أو على الأقل تقليل الفقد فى الإنتاج وللحصول على منتجات غذائية عالية المواصفات للتسويق يجب وضع إستراتيجية لمكافحة كل من فطريات المخازن وإنتاج السموم الفطرية.

كما هو معروف أن أقدم السموم الفطرية التى تصيب الإنسان هو ergotism (التسمم الارجوتى الناتج عن أكل من أرز أو أى حبوب مصابة بالارجوت ergot الذى يصيب حبوب الأرز وغيرها من الحبوب بواسطة الفطريات حيث يحل محل الحبة جسم طويل داكن اللون). تلوث الحبوب بالـ ergotoxin يتم بواسطة الأجسام الحجرية لـ *Claviceps purprea* ومرض ergotism يسبب تشنجات نتيجة حدوث تنبيه فى الجهاز العصبى المركزى.

تم التعرف على حجم التلوث الفطرى خلال الحرب العالمية الثانية حيث وجد أن استهلاك الحبوب الملوثة بالعفن قد سبب إصابات جلدية، نزيف دموى، فشل فى الكلى والكبد لعدد كبير من الناس والحيوانات.

المكافحة البيولوجية : Biological control

تم تقدير أن 25% من المواد الزراعية تتلوث بالسموم الفطرية بدرجة معينة، ومن هنا كان التركيز على وضع إستراتيجية لتقليل تركيز السموم الفطرية فى الغذاء.

الإستراتيجية الرئيسية هى استعمال مبيدات الفطريات والتى إعتبرت الوسيلة الأولية التى يمكن بها مكافحة أمراض ما بعد الحصاد postharvest diseases.

وبهدف استبدال المواد الكيميائية المخلقة وتلافى تأثيراتها الجانبية ببدائل أخرى ضد فطريات المخازن وإيقاف إنتاج السموم الفطرية تم استخدام كائنات دقيقة مضادة antagonistic microorganisms.

قد يحدث التلوث بالعفن والسموم الفطرية عند أى مرحلة من سلسلة انتاج الغذاء أو الأعلاف: إما قبل الحصاد، أثناء الحصاد أو بعد الحصاد فى المخازن. لذلك من الضرورى بعد اختيار الـ antagonists الفعالة التى تطبق بكفاءة لمكافحة المسببات المرضية أو إيقاف إنتاجها من السموم الفطرية. وعلى هذا الأساس يمكن التوصية بالمضادات الميكروبية microbial anagonists من خلال طريقين إما عند الحصاد أو مرحلة ما بعد الحصاد.

أولا : إستراتيجية ما قبل الحصاد postharvest strategy والتى تهدف الى منع نمو الفطريات وإيقاف إنتاجها من السموم الفطرية فى الحقل. فمثلا يستعمل فى الوقت الحالى سلالات غير منتجه للسموم تنافسيا competitive nontoxigenec strains لإنتاج السموم الفطرية من فطر *Aspergillus flavus* . ويعتمد ذلك على التنافس بين السلالات السامة وغير السامة toxigenic and nontoxigenic strains لمنع أو إقصاء السلالة السامة فى نفس البيئة الملائمة.

تم تسجيل منتجين كمبيدات حيوية لمكافحة الأفلاتوكسين :

1 – المنتج الأول هو AF – 36 الذى يعتمد على سلالة الفطر *A. flavs* غير السامة. يستخدم هذا المنتج لمكافحة الأفلاتوكسين فى بذور القطن.

2 – المنتج الثانى هو Alfa – Guard يعتمد على السلالة غير السامة من الفطر *A. flavs* (NRRL 21882) لمكافحة الأفلاتوكسين على الذرة فى الحقل، والذرة السكرية، وفشار الذرة وفول السودانى.

ثانيا: إستراتيجية ما بعد الحصاد postharvest approach والتى تقع فى طريقين:
1– إيقاف المسببات المرضية فى هذا الوقت بعد الحصاد.
2–التخلص التام من التلوث بالسموم الفطرية بواسطة تطبيق الـ microorganism antagonists
يمكن إيقاف المسببات المرضية بواسطة البيئات الميكروبية التى يمكن تطبيقها إما فى صورة رشاً بعد الحصاد أو غمراً فى محلول الـ antagonists .
معاملة الغمر تحتوى معلق خميرة *Saccharomyces cerevisia* والتى استعملت ما بعد حصاد محصول البن أثناء التصنيع وتؤدى الى خفض كلى فى حدوث العفن الكلى (*A. Niger, A. ochraceus*) وكذلك خفض التلوث بالـ ochratoxin A، وبالمثل لوحظ خفض معنوى على انتاج وتراكم الأفلاتوكسين بواسطة *A. parasiticus* فى الفول السودانى بعد معاملة الحبوب بمعلق *Streptomyces*.
أظهرت بعض الدراسات أن عملية إزالة التلوث الفطرى يمكن الوصول اليها باستعمال إنزيمات بعض الخمائر، البكتيريا أو الفطريات التى تحطم السموم الفطرية إلى مركبات غير سامة وتقلل التأثير الضار لها، فمثلا خميرة *Trichosporon* تعمل على إزالة سمية كل من zearalenone, ochratoxin تتم إزالة سمية الـ ochratoxin بواسطة كسر الـ phenylalanine moiety لتكوين مشتق له كميتابوليت غير سام.

كيف يمكن تحفيز كفاءة المضادات البيولوجية :
على الرغم من التقدم السريع الذى تم فى مجال المكافحة البيولوجية لأمراض ما بعد الحصاد خلال العشرة سنوات الأخيرة فقد ظهرت صعوبات للحصول على السلالات المضادة antagonistic strains التى يكون لها نشاط واسع ضد المسببات المرضية المنتجة للسموم الفطرية المختلفة ، وبسبب ذلك فبدلا من استعمال عزلة

بمفردها فإن الإتجاه فى الوقت الحالى هو تطبيق جوهر ميكروبى بالتناسق مع طريق آخر .

المكافحة البيولوجية والعمليات الزراعية الجيدة :

الخطوة الأولى المنطقية لإدارة التلوث بالمسببات المرضية هو العمليات الزراعية الجيدة فى الحقل والمخزن . بعض هذه العمليات يعتمد على الاختيار الجيد لمادة المحصول للزراعة بالإضافة الى وقت الحصاد. على وجه العموم المحاصيل المتأخرة هى الأكثر احتمالا لظهور تلوث السموم الفطرية، وعلى ذلك يجب التجفيف المباشر للحبوب والبذور وحبوب القهوة والفاكهة.
علاوة على ذلك يجب أن يوضع فى الاعتبار درجة الحرارة والرطوبة عند ظروف التخزين. بعض المواد الأخرى مثل حبوب الذرة فإن اختيار الهجين hybrid، كثافة النباتات، زمن الزراعة، مكافحة الحشرات قد يكون لها تأثير على تلوث المادة السامة.

بعض العوامل التى تؤثر على الفطريات وتواجد السموم الفطرية فى السلسلة الغذائية كالتالى :

- العوامل البيولوجية: محصول حساس وفطر منتج للمادة السامة.
- العوامل البيئية: درجة الحرارة، الرطوبة، الضرر الميكانيكى والتحطيم بواسطة الحشرات والطيور.
- الحصـــاد: نضج المحصول، درجة الحرارة، الرطوبة أثناء الحصاد، واكتشاف التلوث .
- التخزين: درجة الحرارة، الرطوبة، واكتشاف التلوث.
- التوزيع: إكتشاف التلوث والتحولات.

مخلوط المضادات Antagonist mixtures :

المكافحة البيولوجية الفعالة تعتمد على مخلوط من المضادات غير التنافسية تعمل فى وقت واحد وتؤدى الى فرص للنجاح عن المكافحة المعتمدة فقط على كائن دقيق فردى .

فوائد استعمال مخلوط الـ microbial antagonists مثل :

- اتساع مدى المسببات المرضية النباتية المستهدفة.
- خفض الفقد الراجع الى الظروف البيئية الغير ملائمة.
- اكتشاف أكثر من ميكانيكية للمكافحة.
- تجميع فوائد المكافحة الحيوية المختلفة بدون نقل إل exogenous genes خلال التحولات الوراثية .

وعلى سبيل المثال فإن المدى الكبير للمسببات المرضية على التفاح تم مكافحته عندما تم تطبيق إل microbial antagonists في صورة مخلوط بدلا من استعمال السلالات الميكروبية منفردة. وبالمثل وجد أن النقص في تركيز الأفلاتوكسين في حقول الفول السودانى من 75 الى 9.99% فى حقول الفول السودانى كان نتيجة استعمال مخلوط من طفرات غير سامة من *A. flatus and A. parasiticus* وهذان المثالان يوضحان درجة المكافحة العالية التى تتم باستعمال مخلوط من جواهر المكافحة الحيوية حتى فى ظروف الحقل .

الإضافات الى الجوهر البيولوجي:

Biological agent additives:

كثير من المواد المضافة يمكن أن تحفز نشاط المكافحة البيولوجية بواسطة إل antagonists وفى هذه الحالة فإن الأملاح هى الأكثر ملائمة. فمثلا وجد أن خليط من 2% كربونات صوديوم مع إل yeast antagonist المنتج من الخميرة *Candida oleophila* يحفز عمله بدرجة كبيرة فى المكافحة الحيوية (تأثير علاجى ووقائى) ضد أمراض العفن الفطرية فى التفاح والخوخ بسبب *Botrytis, Penicillium , Monilina , Rhizopus* .

ثالثا : محاولات لتثبيط إنتاج السموم الفطرية

Trials for inhibiting mycotoxin production:

1. يمكن خفض محتوى السموم الفطرية فى المحصول الذى تم حصده harvested crops بواسطة رش مبيد فطرى يحتوى benzimidazole كماده فعاله على محاصيل الطعام.

2. يمكن رش المبيد الفطرى على محاصيل الطعام أثناء مرحلة النضج حتى حصادها.

3. قد يكون المبيد الفطرى عبارة عن مزيج يحتوى مبيد فطرى من النوع benzimidazole وأحد المركبات التالية:

strobilurin-type agent, sterol biosynthesis inhibitor, guanidine – type fungicide.

4. يحدث ذلك عندما يكون محصول الغذاء هو القمح، الشعير وما شابه ذلك.

5. تجنب نمو أصناف عالية الحساسية فى المناطق ذو تاريخ متعلق بانتشار الإصابة.

6. تجهيز للرش مباشرة إذا كان الجو رطبا عند الإزهار.

7. استخدام مخلوط مبيدات فطريه للحصول على تأثير كبير ضد الأنواع المنتجة للسموم.

8. يتم الرش بسرعة بقدر الإمكان بعد الإصابة.

9. تقييم مكان المحصول.

10. عمل اختبار للحبوب عند وجود شك فى التلوث.

رابعا : علاقة الـ Bt Corn وخفض السموم الفطريه:
B_t Corn and Mycotoxin Reduction:

من خلال كثير من المحاصيل ذات الجين الانتقالى (جين أو ماده وراثية تنتقل طبيعياً بواسطة عدد من عمليات الهندسة الوراثية من عضو لآخر) تقدم منافع للمنتجين وقد تؤدى أيضاً فوائد لصحة المستهلك.

ويعتبر B_t - Corn هو أحد المحاصيل النامية عن طريقا للانتقال الجينى transgenic. حيث يحتوى الجين من بكتريا التربة *Bacillus thuringiensis* والذى يتحول إلى بروتين يكون ساماً لآفات الذرة مثل كثير من رتبه حرشفية الأجنحة Lepidoptera والتى تشمل آفات الذرة الشائعة مثل ثاقبات الذرة الأوربية *(Ostrinia nubilalis)* وثاقبات الذرة الجنوب غربيه *(Diatraea grandiosella)*، دودة حبوب وكيزان الذرة (*Helicoverpa zea*) ودودة جذور الذرة *(Diabrotica spp)*. B_t Corn غير ضار للفقاريات والحشرات غير هذه الرتبة المذكورة.

أحد الفوائد غير المباشرة من B_t - Corn توضح المستويات المنخفضة من التلوث بالسموم الفطرية. وكما هو معروف أن السموم الفطرية لا يمكن تجنبها فى الطعام ومع توفر أحدث وأحسن الطرق التكنولوجية لا يمكن التخلص كلية من وجودها فى المحاصيل.

تعتبر الإصابة الحشرية أحد العوامل التى تؤدى بالذرة إلى التلوث الفطرى بسبب أن الحشرات آكلات الأعشاب تحدث أضراراً وجروح فى الحبوب kernel wounds والتى تشجع المستعمرات الفطرية، والحشرات نفسها تعمل كناقلات للجراثيم الفطرية.

وعلى ذلك فإن طرق خفض الإصابة الحشرية فى الذرة الذى يعمل على خفض خطورة التلوث الفطرى. ولقد اظهر B_t - Corn مستويات خفض معنوى لمعظم السموم الفطرية.

عموماً يوجد أربعه من السموم الفطرية تلوث الذرة وبعض الحبوب الأخرى:

1. Fumonisins ينتج (كما هو معروف) بواسطة كل من *Fusarieum verticillioids, F. proliferatum*
2. Deoxynivalenol (DON, or vomitoxin) وهو أحدث الملوثات المعنوية فى الذرة والقمح والشعير فى المناطق المعتدلة مثل الولايات المتحدة، كندا، أوربا وينتج بواسطة الفطريات *F.graminearum* وكذلك النوع الخاص بالمناطق الباردة *F. culmorum*.
3. Zearlalenone وينتج أيضاً بواسطة *F. graminearum*
4. Aflatoxins وينتج أساسا بواسطة الفطر *A.flavas*

توجد عوامل مختلفة تجعل الذرة يصاب بالنمو الفطرى وتراكم السموم الفطرية بعد ذلك. الذرة ما قبل الحصاد فى وجود درجات حرارة عاليه أو متقلبة أو جفاف قد يؤدى الى عدم توافق هجين الذرة corn hybrid مع المنطقة التى تم زراعتها فيها والتلف الناتج من الآفات الحشرية يزيد مستوى السموم الفطرية. وجدير بالذكر أن الضرر الحشرى يعرف جيداً كعامل مكمل فى تزايد السموم الفطرية.

حشرات دودة كيزان وحبوب الذرة corn earworm (CEW) وجد أنها فى الحقل تشارك فى تركيز السموم الفطرية فى الذرة. والضرر الحشرى أيضاً يؤدى إلى تراكم السموم الفطرية فى التخزين. لذلك فان Bt - corn يخفض مستوى ضرر الحشرات وبذلك يكافح بطريق مباشر أحد العوامل المؤدية إلى تراكم السموم الفطرية.

فى منطقة حزام الذرة فى الولايات المتحدة أثبتت الدراسات الحقلية أنه عندما تكون الإصابة الحشرية من ثاقبات الذرة الأوربية European corn borer(ECB) أو ثاقبات الذرة الجنوبية الغربية

Southwestern corn borer(SWCB) عاليه فإن تركيزات fumonisin تكون منخفضة بدرجة معنوية فى Bt - corn بالمقارنة بالذرة التقليدى. ولقد أظهرت الدراسات أيضاً فى أوربا وأماكن أخرى فى العالم أن Bt - corn فى الحقول به مستويات منخفضة بدرجه ملحوظة من الـ fumonisin بالمقارنة مع الذرة التقليدى.

من ناحية أخرى فإن الاصابة الحشريه ليست لها علاقة قويه بتركيزات الـ aflatoxins فى الذره بسبب وجود عوامل متعدده تؤدى إلى تراكم الـ aflatoxins فى الذره. فمثلا، الحشرات حرشفيه الأجنحه التى تكافح بواسطة أصناف الـ Bt - corn المتاحه تجاريا فى الوقت الحالى ليست هامه فى جعل النبات يصاب بواسطة فطر *A. flavas* حيث أن هذا الفطر قد يصيب الذره من خلال الأنسجه وليس من خلال جروح فى الحبوب وفى كيزان الذره التى تتم بواسطة الحشرات.

أظهرت دراسات أخرى أن بعض العوامل مثل الضغط الناتج من الجفاف والهجين الفردي القابل للإصابة والجروح تكون أكثر أهميه فى تقدير مستويات التلوث بالأفلاتوكسين عن التلوث الحشرى.

ومن هنا يمكن القول أن:

1- التشريع الحالى للاتحاد الأوربى ومنظمه الأغذية والزراعة وضعت حدوداً لمعظم السموم الفطرية فى الحبوب ومنتجاتها (مثل سموم الفيوزايوم التى تحدث فى الحقل، Ochratoxin A التى تحدث فى المخزن.

2- العمليات الزراعية الجيدة تقلل من السموم الفطرية حيث أن سموم الفيوزايوم الفطرية قد تنتج على محاصيل الحبوب فى الحقل كنتيجة للإصابة بلفحة الفيوزايوم fusarium ear blight حيث أن الخطورة تختلف بين السنوات والمناطق معتمده عل المناخ.

3- تعتبر العمليات الزراعية الجيدة هى الميكانيكية الأولية لخفض السموم الفطرية فى الحبوب ومنتجاتها.

4- يجب عمل تقييم الاصابه risk assessments طوال العام لتقدير مدى التلوث بسموم الفيوزايوم فى المحاصيل وذلك من خلال المحصول السابق، الزراعة، عمليات الرش ثم الحصاد كعوامل للتأثير التراكمى Cumulative effect. فمثلا يجب تفادى تكرار

المحاصيل التى تعتبر عائل لفطريات الفيوزاريوم (مثل الذرة، القمح، الشعير والشوفان) مع خفض متبقيات المحصول السابق على سطح التربة بواسطة عمليات الحرث.

يجب اختيار أصناف أكثر مقاومه للفيوزايوم. والاهتمام باختيار مبيد فطرى مناسب بالجرعة والمواعيد المناسبة للرش لمكافحه الـ ear blight، ويجب تحديد الوقت الملائم للحصاد والحبوب الجافة تحت 18% محتوى رطوبى، كما يجب مكافحة الحشائش حيث يمكن تواجد فطريات الفيوزاريوم على عدد كبير من الحشائش مما يؤدى إلى خفض الفطر والسموم الناتجة منه. مع مكافحة الحشرات حيث أن أضرار الحشرات هى طريق جيد للاصابة الفطرية.

5- عمليات التخزين الجيدة تقلل الـ Ochratoxin A الذى قد ينتج على الحبوب أثناء التخزين. وتعتبر درجة الحرارة والمحتوى الرطوبه هى عوامل التخزين الهامة التى تؤثر على إنتاج Ochratoxin A وعلى ذلك تعتبر عمليات التخزين الجيدة هى الميكانيكية الأولية لخفض إنتاج Ochratoxin A فى الحبوب ومنتجاتها عن طريق التخزين الجيد، توقيت الحصاد، التأكد من كفاءة وسرعة التجفيف والتبريد المستمر مع تقدير درجة الحرارة والمحتوى الرطوبى والنشاط الحشرى يتم ذلك عن طريق :

- التأكد من التصميم الجيد للمخازن بالتهوية الجيدة وتيار الهواء.
- حصاد نظيف وآلات التخزين نظيفة لمنع تواجد الجراثيم الفطرية طول الموسم، صيانة الماكينات لعدم تأخير الحصاد.
- العمل على التجفيف السريع بالهواء الساخن إلى أقل من 18% محتوى رطوبى لتقليل خطورة تواجد Ochratoxin A فى المخزن، تم تبريد الحبوب السريع إلى أقل من 15° C.
- التجفيف المستمر إلى أقل من 15% محتوى رطوبى للتخزين طويل المدة مع التبريد المستمر فى شهور الشتاء إلى أقل من 5° C .
- القياس المستمر لدرجة الحرارة والمحتوى الرطوبى.
- استعمال مصايد أو مناخل لتقدير الحشرات والقراد والمكافحة عند الضرورة.

خامسا : كيفية دخول السموم الفطرية جسم الإنسان وتفاديها:

عندما يكون الناس فى محيط العفن السام فإنهم فى العادة يتعرضون للسموم الفطرية المتواجدة هوائياً airborne micotoxins بواسطة التنفس والاستنشاق وهذه السموم الفطرية تدخل الرئتين وتسبب مشاكل تنفسية وأعراض شديدة أخرى. السموم الفطرية فى الهواء قد تتداخل أيضاً خلال أعين الأشخاص، السموم الفطرية من مجموعة trichothecene قد تمتص خلال الجلد أيضاً. الأعراض تحدث بواسطة Stachybotryts (التى تسمى فى الغالب العفن الأسود السام toxic black mold).

يوجد طريق آخر لدخول السموم الفطرية الى جسم الإنسان بواسطة أكل طعام به سموم فطرية وهذا يحدث فى حالة نمو العفن السام على المحاصيل.

على وجه العموم تتعرض الحيوانات للسموم الفطرية مباشرة عن طريق استهلاك مواد العلف المصابة بالعفن، تلامس الجلد مع مواد مصابة وملوثة بالعفن، استنشاق الجراثيم السامة. أما تعرض الإنسان للسموم الفطرية قد يكون من خلال أحد طريقين: التعرض المباشر نتيجة استهلاك منتجات النبات المصابة، أو التعرض غير المباشر عن طريق استهلاك المنتجات الحيوانية المحتوية متبقيات من السموم الفطرية من طعام الحيوانات.

كثير من السموم الفطرية مثل trichothecene تظل سامة حتى بعد طهيها، وقد يظل هذا المركب ساما لسنوات عديدة حيث وجد أن الضوء فوق البنفسجى U.V light ودرجة حرارة التجميد ليس لها تأثير كبير على الـ trichothecene.

طبقاً لنصائح الخبراء أن الشخص الذى يتعرض للسموم الفطرية يجب أن يستحم لفترة طويلة من الوقت، ويغسل نفسه تماما بالصابون والماء، كما يجب غسيل شعره بالشامبو بقدر الإمكان حيث أن الشعر قد يحتجز كمية كبيرة من السموم الفطرية، ومن الناحية المثالية يقوم الشخص بقص شعره. وبالطبع قبل عمل تلك الأشياء يكون الشخص فى حاجة لترك البيئة التى تعرض من خلالها للسموم الفطرية بمعنى

أن يترك المكان فى حالة نمو العفن الأسود السام ولا يعود إذا لم يتم حل المشكلة.

معظم السموم الفطرية من العفن السام فى البيوت فى العادة تتواجد متداخلة فى السجاجيد. وعند السير فوق السجادة فانه يتم إثارة وتحريك كثير من جسيمات السموم الفطرية فى الهواء مصاحبة لجراثيم ومواد أخرى مسببة للحساسية. ولا توجد طريقة للتخلص من كل السموم الفطرية من السجادة والرأى الوحيد هنا هو التخلص من السجادة واستبدالها.
تنظيف السجادة بواسطة الشفط باستخدام filtered vacuum لا يمتص كل السموم الفطرية المتداخلة فى السجادة. وفى حالة أن الـ vacuum cleaners يمكن أن تمتص جراثيم العفن فإن السموم الفطرية الأصغر سوف تمر إلى الخارج وتزيد كمية السموم الفطرية فى الهواء.

الباب الحادي عشر

كيمياء ومكافحة السموم الفطرية

Chemistry and Control of Mycotoxins

الباب الحادي عشر

كيمياء ومكافحة السموم الفطرية
Chemistry and Control of Mycotoxins

تم التعرف على كثير من الأنواع المسببة للعفن على أنها جواهر تسبب التلف لكثير من أنواع الطعام المختلفة وعلف الحيوانات. نمو العفن الفطرى يكون مصحوباً بتغيير فى اللون، الملمس والنكهة، وكثير من ميتابوليت العفن لا يمكن تداوله نظراً لأنه عالى السمية. عند تعريض مخلوط معقد من أفلاتوكسينات حتى 20 بقعة فلوريسنت على TLC، ظهر مكونان رئيسيان أحدهما أزرق فلوريسنت (Fluorcent Blue)، والآخر أخضر فلوريسنت عند تعرضها الى UV light هما أفلاتوكسين G, B، وكل مركب منهما يشكل مركبان آخران تختلف فى قيمة F_{ro} على TLC هم: G2, G1 , B2 , B1 بترتيب تنازلى فى قيمة F_{ro}. وضح من طيف إمتصاص UV, IR أن هذه المركبات الأربعة قريبة من بعضها الآخر. التركيب الكيميائي لها يوضح وجود حلقة لاكتون فى نظام vinyl ether، مجموعة ميثوكسيل وغياب مجموعة هيدروكسيل حرة.

Aflatoxin B1 يمتص 3 جزيئات هيدروجين على Pd – C ويتكون Aflatoxin B2 (مشتق ثانى هيدرو لـ B1) وكذلك بالنسبة G2، يمتص 3 جزيئات هيدروجين على Pd – C ويتكون Aflatoxin G2 (مشتق ثانى هيدرو لـ G1).

ولقد تم فصل B1, B2, G1, G2 بواسطة الكروماتوجرافى على silica acid بينما M1, M2 تم فصلها على الـ paper chromatography.

و يتضح أن كما سبق أن :

M1 is 4 – hydroxyaflatoxin B1
M2 is 4 – hydroxyaflatoxin B2
B2a is 2 – hydroxyaflatoxin M2
G2a is 2 – hydroxyaflatoxin G2

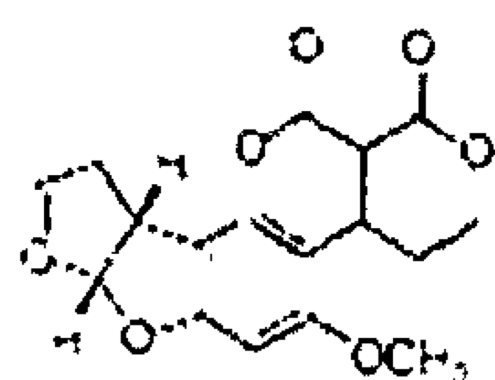
وهنا أصبح معروفاً 8 مركبات أفلاتوكسين متقاربة تركيبياً منها 4 مركبات مشتقات هيدروكسيلية. المقطع toxin ليس ملائماً دائماً فمثلا كل من aflatoxin B2a and G2a أظهرت عدم سمية نسبياً حتى عند التركيزات العالية المختبرة:
1200 µg B2a, 1600 µg G2a)60 الى 80 مرة مثل كميات B1 المميتة).
شدة الضوء الفلوريسنت للأفلاتوكسين تحت UV lightيعطى احتمال لتقديرها عند مستويات منخفضة جداً بواسطة طرق فيزيائيه- كيميائية physic-chemical methods فمثلا حوالى 10^{-4} µg (0.1ng) يمكن اكتشافها بواسطة TLC. أما التركيزات الأقل من جزء فى البليون 1ppb = 1 µg / kgمن أفلاتوكسين B1 يمكن تقديرها بسهولة.
ثبت أن أفلاتوكسين B1 هو الأكثر قوة وفعالية يليه تنازلياً G1, B2 and G2 حيث G2 أقلهم، وكانت حساسية النوع تقل مع العمر فمثلا LD_{50} من B1 على البط ذو عمر اليوم الواحد حوالى 18 µg، بينما من G2 (الأقل سمية) حوالى 180 µg. وجد أن قيم LD_{50} لكل من M1 and M2 قابلة للمقارنة لكل من B1 and B2 على التوالى حيث يسببوا ضرراً متشابهاً فى كبد البط .
التعرض المستمر (المزمن) لفترات ممتدة إلى مخلوط من الأفلاتوكسين أو B1, B2 or G1 النقية يؤدى الى إحداث أورام فى الحيوانات المختلفة، وظهر أن أفلاتوكسين B1 مسبب سرطانى بدرجة قوية عند معدل 2 µg / kg، وظهرت hematoma بعد عام بنسبة 40% عند هذا المعدل فى بعض الحيوانات. أما G1 الأقل قوة الى حد ما يؤدى الى حدوث hematoma بنسبة 10% عند نفس المعدل، 20% عند معدل 8 µg / kg .

ثبت أن الأفلاتوكسين مفيدة جداً كوسيلة عملية لبحث ميكانيكية مسببات السرطان الكيميائية والتى تهتم بالتغيرات البيوكيميائية الخلوية المصحوبة بالاستجابة لسمية الأفلاتوكسين فى النظم البيولوجية الحساسة والتفاعلات تتعلق بالتغيرات فى الحمض النووى وميتابولزم البروتين الناتجة بواسطة التعرض للأفلاتوكسين، ووجد

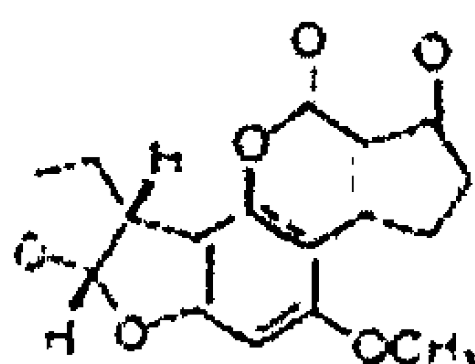
أن إعطاء أفلاتوكسين B1 الى الفئران يليه تثبيط تخليق DNA, RNA فى الكبد، ويتم أيضا تلف وضرر فى تخليق البروتين.
السموم الفطرية mycotoxins من أصل بيولوجى على الرغم من جهود مكافحة التلوث الفطرى فإن الفطريات المسببة للسمية تتواجد فى كل الأماكن الطبيعية وتوجد بانتظام فى جميع مواد الطعام على مستوى العالم بسبب إصابه العفن للمنتجات الزراعية الحساسة مثل الحبوب، المكسرات والفاكهة. أنواع كثيرة من *Aspergillus, Penicillium, Alternaria* مسئولة بدرجة كبيرة عن تدهور الفاكهة والخضروات حيث تنتج سموم فطرية خلال المراحل المختلفة لنمو المسبب المرضى. السموم الفطرية الأكثر شيوعاً والمصاحبة للفاكهة والخضروات ومنتجاتها هى:
aflatoxins, patulin, ochratoxin A, alternaria toxins
الأفلاتوكسين توجد طبيعيا فى فى الفاكهة فى المناطق الاستوائية وتحت الاستوائيه حيث الظروف البيئية تساعد على نمو الفطريات المنتجه للأفلاتوكسين. الأفلاتوكسين فى التين والبلح كانت مصحوبة بتواجد كل من *Aspergillus flatus, A. parasiticus*،بينما ochratoxin A فى التين كان له علاقة أساساً مع تواجد *A. alliaceus* ، ووجد ochratoxin A. فى عصير العنب ومنتجاته الأخرى مصحوباً بتواجد *A. carbonarius* والى مدى أقل مع *A. tubingesis, A. niger*.

التركيب الكيميائي للسموم الفطرية فى الطعام :

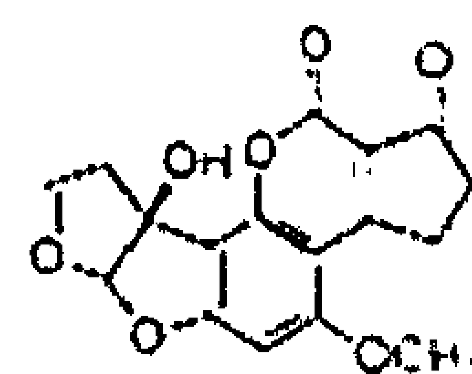
Chemical structures of mycotoxins found in foods



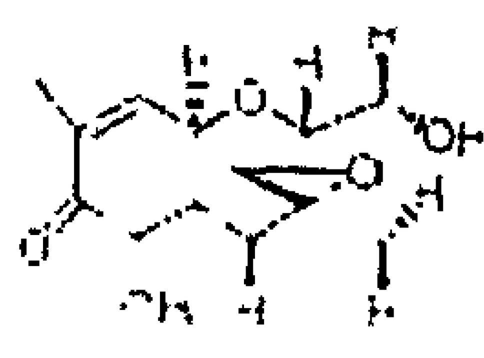
Aflatoxin G_1



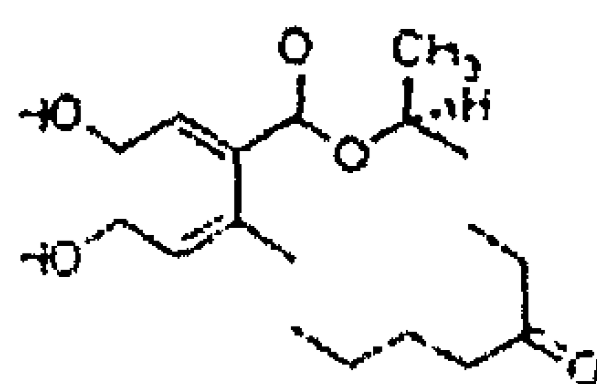
Aflatoxin B_1



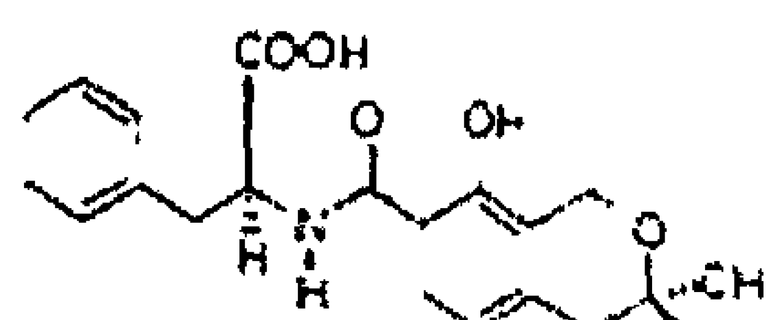
Aflatoxin M_1



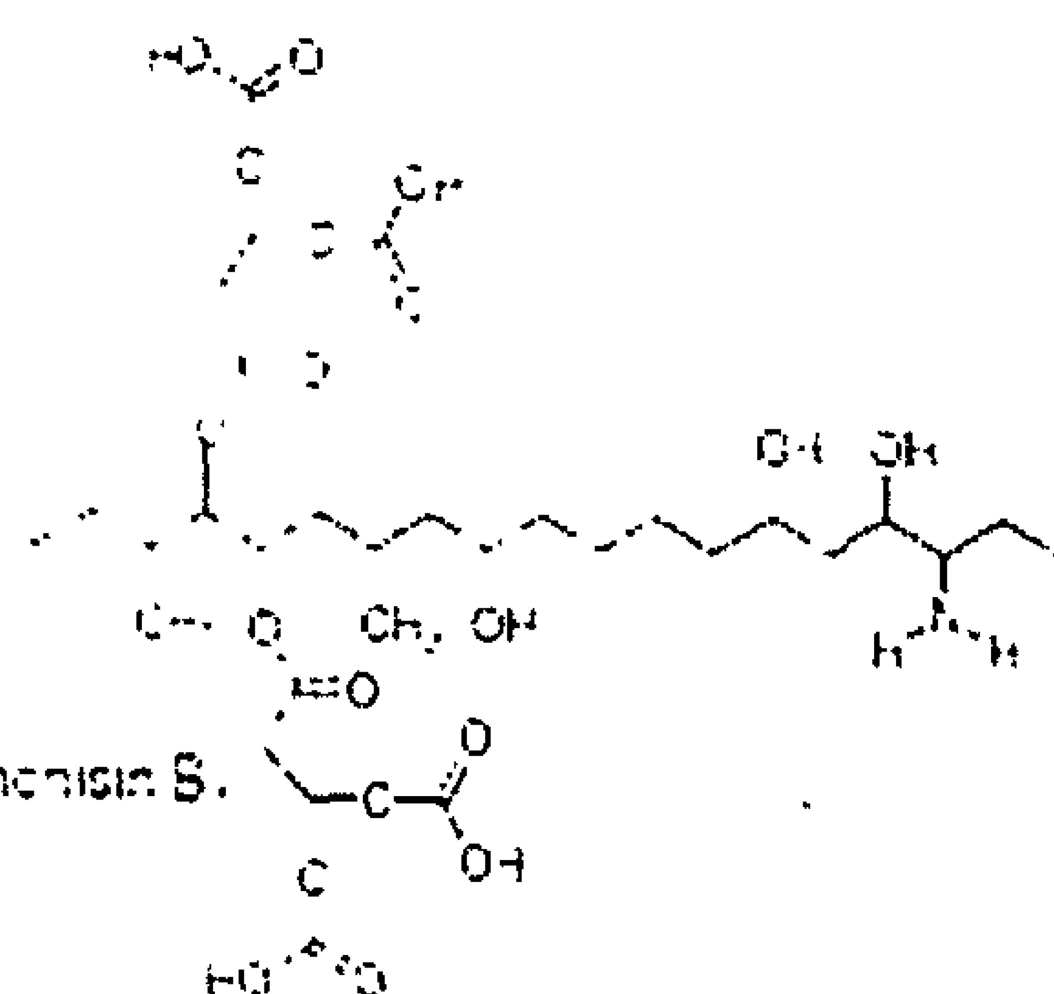
Deoxynivalenol



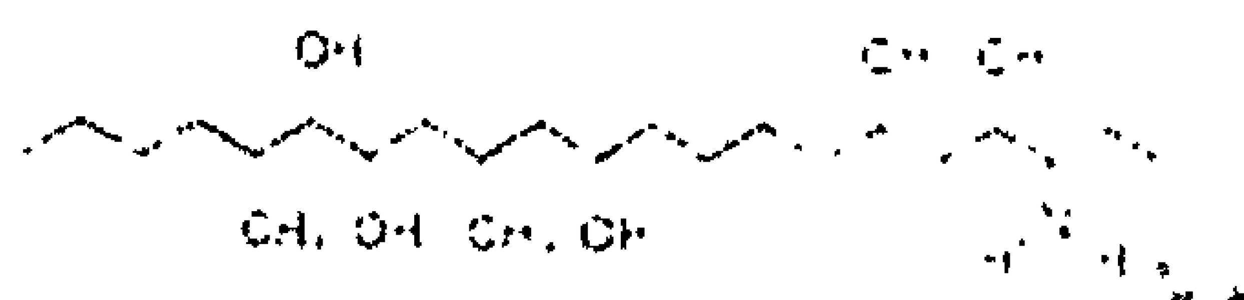
Zearalenone



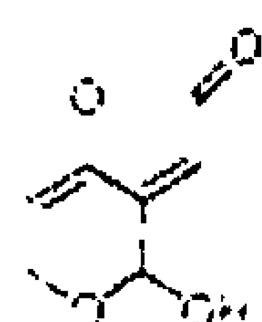
Ochratoxin A



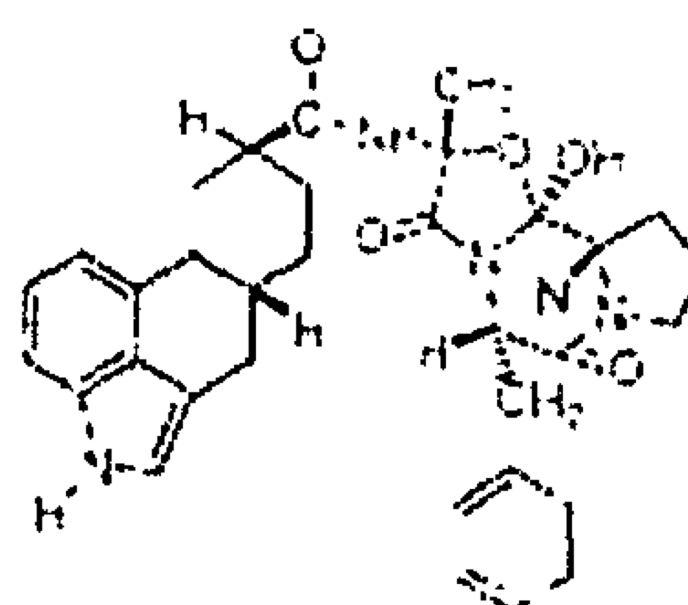
Fumonisin B_1



Hydrolyzed Fumonisin B_1



Patulin



Ergotamine

على المستوى الجقلي فإن نمو العفن الفطري قد يؤدى إلى نقص إنتاج المحاصيل وإنتاجيه حيوانات الحقل نتيجة المرض أو الموت الراجع إلى استهلاك العلف الملوث فى صناعة الغذاء ويكون من الصعوبة تحطيم السموم الفطرية بواسطة عمليات تصنيع الطعام العادية بسبب،

المقاومة بدرجه عاليه والكشف عنها معقدا نتيجة القصور فى طرق التحليل. فى مكان التسويق فإن السموم الفطرية قد تكون عقبه للتجارة الدولية تؤدى الى زيادة التنظيمات الخاصة بالأغذية والأعلاف التى قد تحتويها وإزالتها من سوق السلع.

تتراوح التأثيرات من التأثيرات الحادة (مثل تلف الكبد، الكلى) إلى التأثيرات المزمنة (مثل سرطان الكبد) mutagenic, teratogenic effects وأعراض مثل التهابات الجلد، وقف المناعه والتأثير على الولادة والسمية العصبية والموت.

أفلاتوكسين B1 (AFB1) patulis, fumonisins, من الشك أنها تسبب سرطان للانسان، Deoxynivalenol، trichothecenes بالاضافه الى AFB1 من المحتمل تسبب تأثيرات موقفه للمناعه، اما fumonisin B1 (FB1) يساهم فى تلف الأنابيب العصبية، والخلل الوظيفى للكلى يرجع الى التعرض إلى ochratoxin A

العوامل البيئية تؤثر على وجود السموم الفطريه فى المواد الخام والمخزنه:

التحكم فى تلوث الغذاء بالسموم الفطريه يتم من خلال التحكم فى نشاط الماء، الـ PH، مكافحه نوعيه للمواد الفعاله، الوصول الى حبوب معدله وراثيا مع زياده مقاومه الحشرات، خفض معدلات الاصابه الفطريه عن طريق تحسين إدارة نوعيات البذور.

تأثير السموم الفطريه على إنتاج وصناعة الغذاء:

Mycotoxic Impacting Food Production and Manufacturing

Patulin:

أثبتت الدراسات الحدثيه أن الـ patulin ليس له تأثير سرطانى ولكن توجهت الدراسات إلى genotoxicity. كثير من الابحاث تمت على ثبات الـ patulin أثناء تجهيز عصير التفاح أو أن عملية الترشيح لتنقيه العصير وتركيزه تقلل مستوى الـ patulin حتى 40%. ولقد لوحظ أن هذا المركب غير ثابت أثناء تخمر عصير التفاح إلى cider وقد تم تحطيمه كلية بالمعامله بثانى إكسيد الكبريت (0.125%). أما

العمليات الحراريه لعصير التفاح وجد أنها لا تؤثر فى الـ patulin ولكن قد يتم تحطيم جزئى باستعمال درجة حراره بستره عاليه لوقت قصير كذلك يعتقد ان PH عصير التفاح يغير حراره ثبات الـ patulin وعلى ذلك يجب التحكم فى كل الظروف قبل الدخول فى عمليات قياس التحكم والمكافحه.

Ochratoxin (OTA)

يوجد Ochratoxin فى انواع كثيره من الطعام بسبب أنه ينتج بواسطة سلالات فطريه مختلفه من أنواع *Penicillium,* *Aspergillus* عموماً وجود الكلور فى تركيبه يجعله فريداً ويعتبر هذا المركب:

Nephrotoxic , teratogenic and immumotoxic

وتم تصنيفه class2 B carcinogen من المحتمل يكون مسبب سرطانى للاسنان ويوجد الـ ochratoxin فى كثير من المصادر مثل الحبوب، الخمور، عصير العنب، القهوة والخنزير وبسبب هذا التنوع الكبير من المواد التى تحتوى الـ من ochratoxin لا توجد طريقه عالميه مناسبه للتحليل حيث تختلف ظروف الاستخلاص والتنظيف بأختلاف الغذاء.

ويعتبر هذا المركب أحد المجاميع الرئيسية من السموم الفطرية بعد اكتشاف الأفلاتوكسين، ويوجد OTA فى كثير من منتجات الطعام النباتية مثل الـ cereals وبسبب فترة نصف العمر الطويلة له فإنه يتراكم فى السلسلة الغذائية. يمتص OTA بطريقة غير مؤثرة فى القنوات الهضمية لكنه يمتص بشدة فى الكلى kidneys. وقد يتواجد أعلى الكميات من OTA فى الدم وتتوزع فى الكلى، الكبد، العضلات والأنسجة الدهنية فى ترتيب تنازلى. يفرز السم أولا فى البول وإلى أقل درجة فى فى الصفراء bile وأيضا فى اللبن. وجد أن فترة نصف العمر للـ OTA عن طريق الفم من OTA عن طريق فى الوريد .

دراسة علاقة التركيب بالفاعلية تقترح أن سمية OTA قد ترجع الى isocoumarin moiety and lactone carbonyl group فى

المركب. وجد أن OTA يقلل تحول الجينات المختلفة المنظمة بواسطة الـ nuclear factor-erythroid 2p45-related factor(Nrf2) و يقلل تحول الإنزيمات المضادة للأكسدة antioxidant enzymes بواسطة تثبيط Nrf2 . سمية OTA تساعد فى تطور أمراض الكلى بواسطة انتاج الضغط المؤكسد oxidative stress.
وجد أن التعاطى المزمن chronic administration لجرعة منخفضة من OTA تسبب تغيرات مورفولوجية ووظيفية فى الـ proximal tubules ووجد أن تناول مستخلص البلح (التمر) يحمى ضد الضرر الناتج فى tubule's tissue الناتج من OTA.

على الأحوال فإن المعاملة بمضادات الأكسدة فشلت فى منع تطور الأورام الناتجة بواسطة OAT فى الحيوانات. ووجد أن مركب indomethacin والأسبرين تمنع السمية الوراثية genotoxicity بواسطة OAT فى المثانة البولية والكلى فى الـ mice. كما وجد أن OAT يسبب فقدان (نضوب) الـ striatal dopamine والميتابوليت الخاص به .

وعلى ذلك فإن OTA له ميكانيكية تأثير معقدة تشمل:
- oxidative stress
- bio – energetic compromise
- mitochondrial impairment
- inhibition of protein synthesis
- production of DNA single strand breaks
- formation OTA – DNA adducts

ومن ذلك يكون OAT يحفز سمية وسرطان الكلى، سمية وأضرار للميتوكوندريا، انفجار تأكسدى، التداخل مع oxidative phosphorylation، كذلك OAT يكون معقداً مع أيون الحديديك (Fe^{+3}) ويسهل اختزاله.

OAT يؤثر على النظام المناعى فى عدد من الثدييات، ونوع هذا الوقف المناعى immune suppression يعتمد على على عدد من العوامل مثل: الأنواع الموجودة، طرق التناول، الجرعات المختبرة، والطرق المستعملة للكشف عن التأثيرات.

OAT يسبب immune suppression قبل الولادة prenatal وبعد الولادة postnatal وطول حياة البالغ adult .

النشاط السام المناعى بواسطة OAT فى العادة ينتج من تغيرات التحلل degenerative change وموت الخلايا بعد necrosis and apoptosis مع الإحلال البطىء لخلايا المناعة المتأثرة وذلك نتيجة تثبيط تخليق البروتين. وعلى ذلك فان تثبيط تخليق البروتين، oxidative stress، وتنشيط طرق خلايا الإشارة النوعية activation of specific cell signaling pathways تكون المسئولة عن التأثير السرطانى لـ OAT.

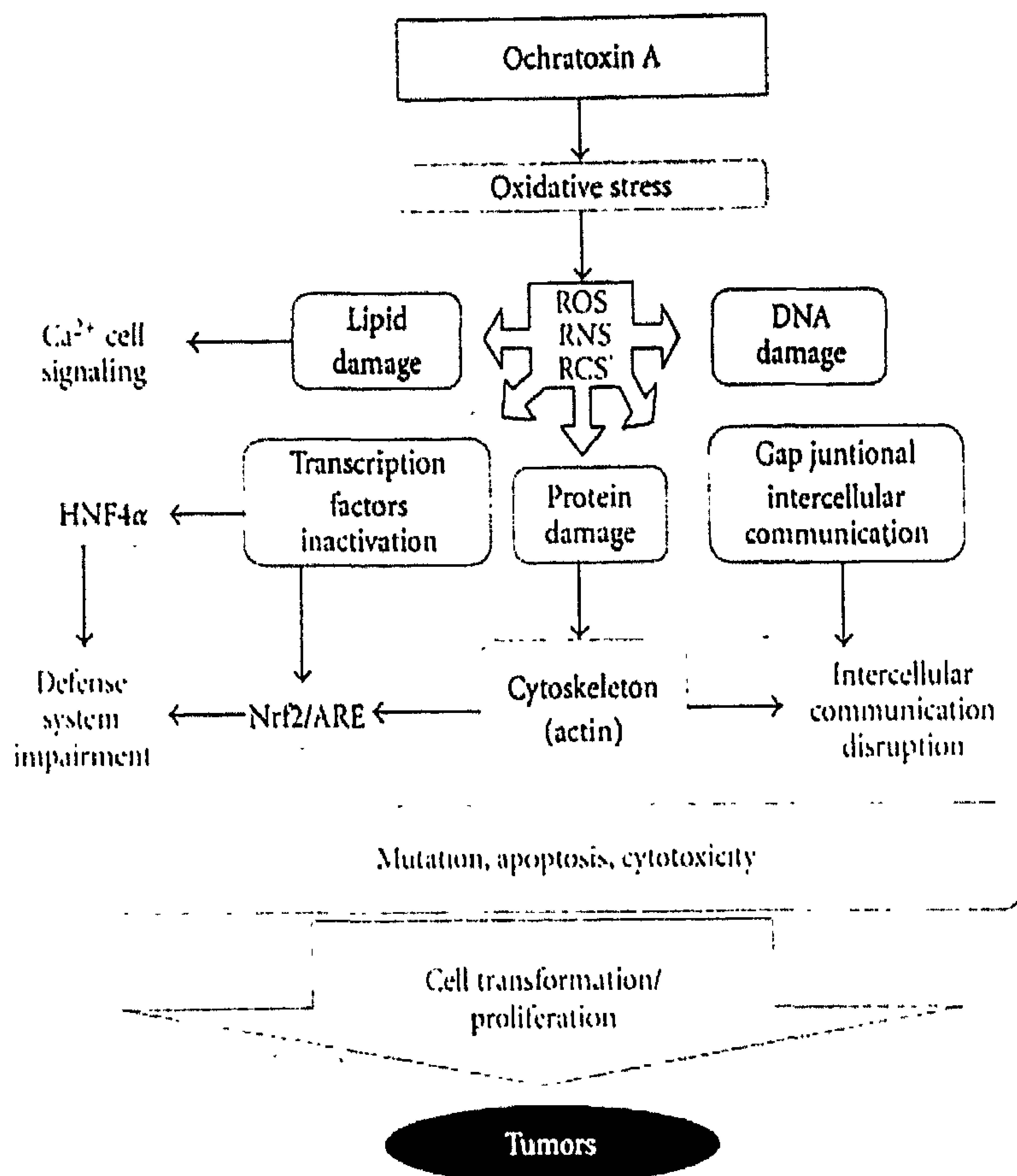
عموماً الـ oxidative stress تؤدى الى زيادة انتاج كل من :

- Reactive Oxygen species (ROS).
- Reactive Nitrogen species (RNS).
- Reactive Carbon species (RCS) .

السمية الخلوية وانتاج تلك الأنواع النشطة كيميائيا هو تعبير عن ميكانيكية تأثير السموم الفطرية. ROS هى جزيئات نشطة كيميائياً تحتوى إكسجين عالى الفعالية نتيجة وجود زوج الكترونات غير مشارك unpaired electrons، وتتكون ROS كنواتج ثانوية طبيعية لميتابولزم مركبات الإكسجين ولها دور هام فى signaling and homeostasis .

على أى الأحوال أثناء وقت الشد البيئى فان مستوى الـ ROS يزيد بطريقة مثيرة نتيجة الـ oxidative stress والذى يحدث عندما يصل تركيز ROS الناتجة إلى قدرة مضادات الأكسدة فى الخلية.

شكل (8) يوضح الـ oxidative stress فى الطريقة المقترحة لتأثير OAT.



طريقة التأثير السام لـ ochratoxin A (OTA) من خلال عملية الـ oxidative stress ويتضح أن كل منROS, RNS, RCS تنتج أساساً من تفاعلات أكسدة واختزال مباشرة تشمل OTA أو من خلال تثبيط الدفاع الخلوى مثل تثبيط عوامل الاستنساخ transcription factors مثل Nrf2 الذى ينظم الإنزيمات ذات الخواص المضادة للأكسدة. إنتاج الأصول سوف يحفز التلف التأكسدى للجزيئات الكبيرة مثل أكسدة قواعد الـ DNA قد تتحول الى طفرات منتجة خلايا متحولة transformed cells. الأصول

الناتجة أيضاً سوف تثير الاستجابة البيولوجية التى قد تضعف الاتصالات بين الخلوية وتحفز التكاثر الخلوى ونقص الدفاع الخلوى، وكل ذلك سوف يؤدى فى النهاية الى ظهور السرطان.
ويمكن تلخيص ذلك من خلال:

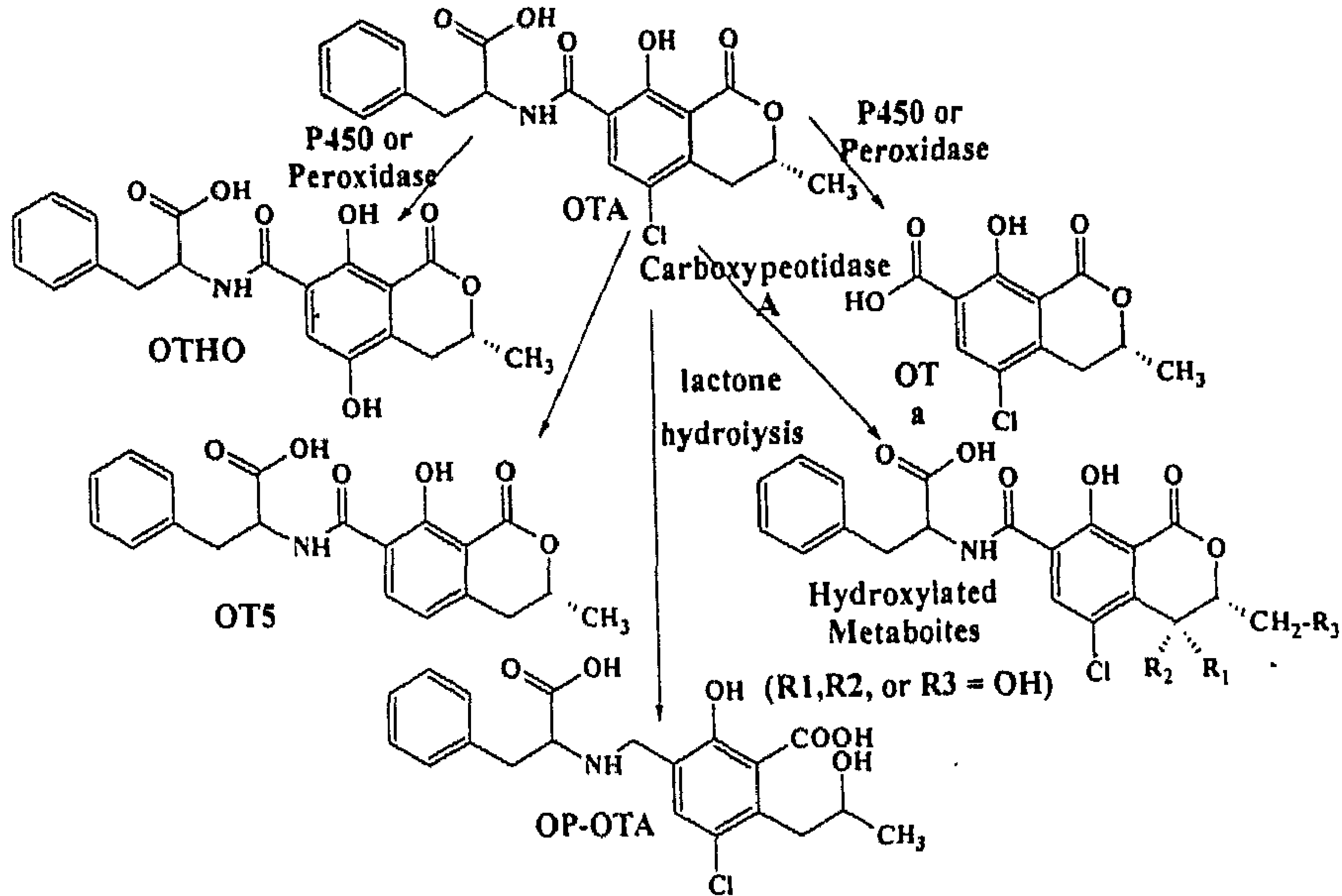
- تحطيم إل DNA
- تحطيم الليبيدات ←—— Ca^{2+} cell signaling
- تحطيم البروتين ←—— Cytoskeleton (actin) ←—— Intercellular communication disruption
- Transcription factors ←—— HNF4α ←—— Defense system impairment inactivation
- Mutation – apoptosis cytotoxicity
- Cell transformation proliferation
- Tumors

وكما هو معروف أن Ochratoxins تؤثر على الأنزيمات المصاحبه لميتابولزم فينايل ألانين حيث تثبط الانزيم المصاحب لتكوين معقد الـphenylalanine-tDNA وقد يتداخل ochratoxins أيضاً مع الانزيمات التى تستعمل الفينايل الانين لمادة تفاعل، مثلا انزيم phenylalanine hydroxylase التى يساعد العمليه غير العكسيه باضافة هيدروكسيل إلى فينايل الانين إلى تيروسين. بالاضافة لذلك فإنه يغير نظام الانتقال خلال غشاء الميتوكندريا ويثبط انتاج ATP ويشجع عمليه membrane lipid peroxidation وتكوين أصل إلـ superoxide and hydrogen peroxide.

وعلى ذلك فإن الميتابوليت الرئيسى هو ochrataein A هو ناتج التحلل المائى بواسطة بكتريا القناه الهضميه بدون جزء الفينايل ألانين. والميتنابوليت الآخر هو المشتقات الهيدروكسيليه hydroxylated derivates مثل:

4(R)-, 4(S)- and 10-OH –ochratoxins

ميتابولزم OTA



تأثير العمليات على إل ochratoxin A الملوث للغذاء غير مفهومه جيداً:

إزالة وطحن القمح (لإزالة الطبقات الخارجية لإنتاج دقيق القمح) تقلل مستويات الـ ochratoxins. ولقد وجد توزيعاً متساوياً للـ ochratoxin A ما بين أجزاء الردة والدقيق بواسطة الطحين الجاف للقمح والشعير. ووجد أن هذا المركب ثابت نسبياً أثناء العمليات الحرارية وعلى أى الأحوال مستويات المادة السامة قلت بنسبة 70 - 96% اثناء تحميص حبوب القهوة وقلت بنفس النسبه أثناء عمليه إزالة الكافيين.

Zearlenone

انتشار الـ Zearlenone Mycotoxicosis فى الحيوانات الحقليه يسبب عدم الخصوبه. وهذه الماده السامه توجد تماماً فى الحبوب وبكميات متغيره بدجة كبيره تتراوح من ng/gm بدرجة قليلة إلى آلاف من ng/gm.

ظهور العفن الفطرى على حبوب النباتات لا يعتمد على تنبيه إنتاج المادة السامة وذلك بسبب أن الحبوب المصابة بالفيوزاريم ليس من الضرورى ظهور العفن بشكل واضح فى وجود تركيز عالى من السموم الفطرية. لقد تم تقدير الكميه المتناولة من الـ zearalenone بواسطة الإنسان كانت تقريباً 0.02 µg/kg/body weight/day على أساس متوسط البيانات المتحصل عليها من كندا والولايات المتحدة والدول الاسكندنافية، ولكن من المحتمل أن هذه الكميه تكون أكبر فى الدول فى المناطق التى فيها نظام تخزين للحبوب غير متحكم فيه.

ووجد أن الـ Zearalenone له سميه وراثية genotoxicity وهذا المركب له صفات هرمونية estrogenic يسبب إنتاج كروموسومات شاذة فى بعض خلايا السلالات الليمفاوية lymphocoytes، خلايا البيض oocyte وخلايا الكبد عندما يتواجد فى مدى 0.1-20 µM وبتقدير ما يتناوله الإنسان تقريباً كان 1- 2µg لكل شخص، وتركيز تواجده فى الدم أو الانسجه يقترب جداً من 0.1 M (30 µg/L) تقريبا وهو تقدير بعيد الاحتمال. أحد المشتقات هو α- Zearalenol له تأثير estrogenic أقوى ٣ مرات.

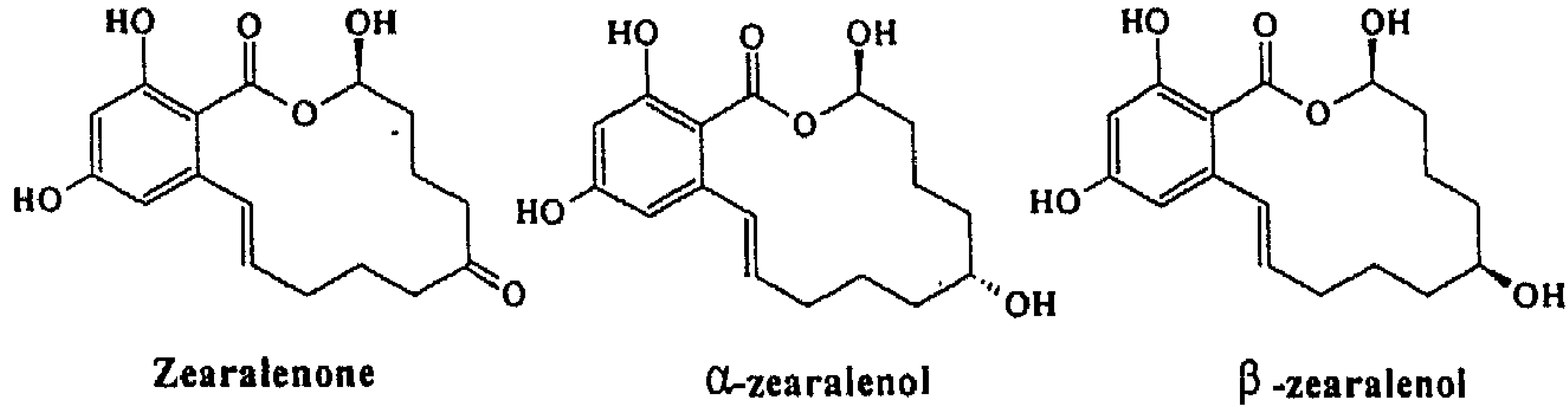
التأثير على الأستروجين يعتمد على التشابه التركيبى بين zearalenone ، estradiol والأخير هو أحد الهرمونات الجنسية الهامة من مجموعة إلـ estrogens في الإناث.

التحول الحيوى للـ zearalenone يحدث في طريقين أساسيين :

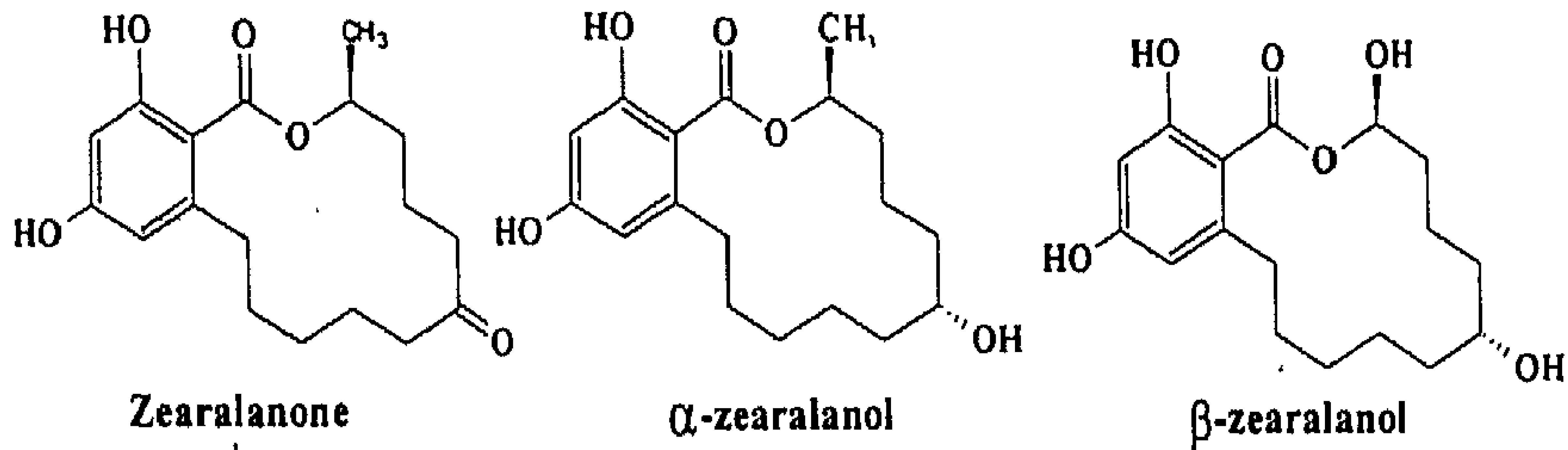
- إضافة هيدروكسيل hydroxylation وتكوين :
  α - zearalenol and β - zearalenol وقد يكون ذلك بمساعدة
  3α–and 3β- hydrxoy- steroid dehydrogenaseHSDs)

- الإرتباط التبادلى conjugation للـ zearalenone ونواتجه الحيوية metabolites مع إلـ glucoronic acid بمساعدة uridine diphosphate glucuronyl transferase (UDPGT).

لقد أوضحت دراسات مختلفة إختلافات في التحول الحيوى للـ zearalenone في الأنواع المختلفة ، فوجد أنه يتحول في الخنازير إلى α-zearalenol السائد بدرجة أكبر بينما في الماشية يكون β - zearalenol .



وفى حالة تشبع الرابطه المزدوجه يصبح اسماء المركبات والرموز كالاتى:-



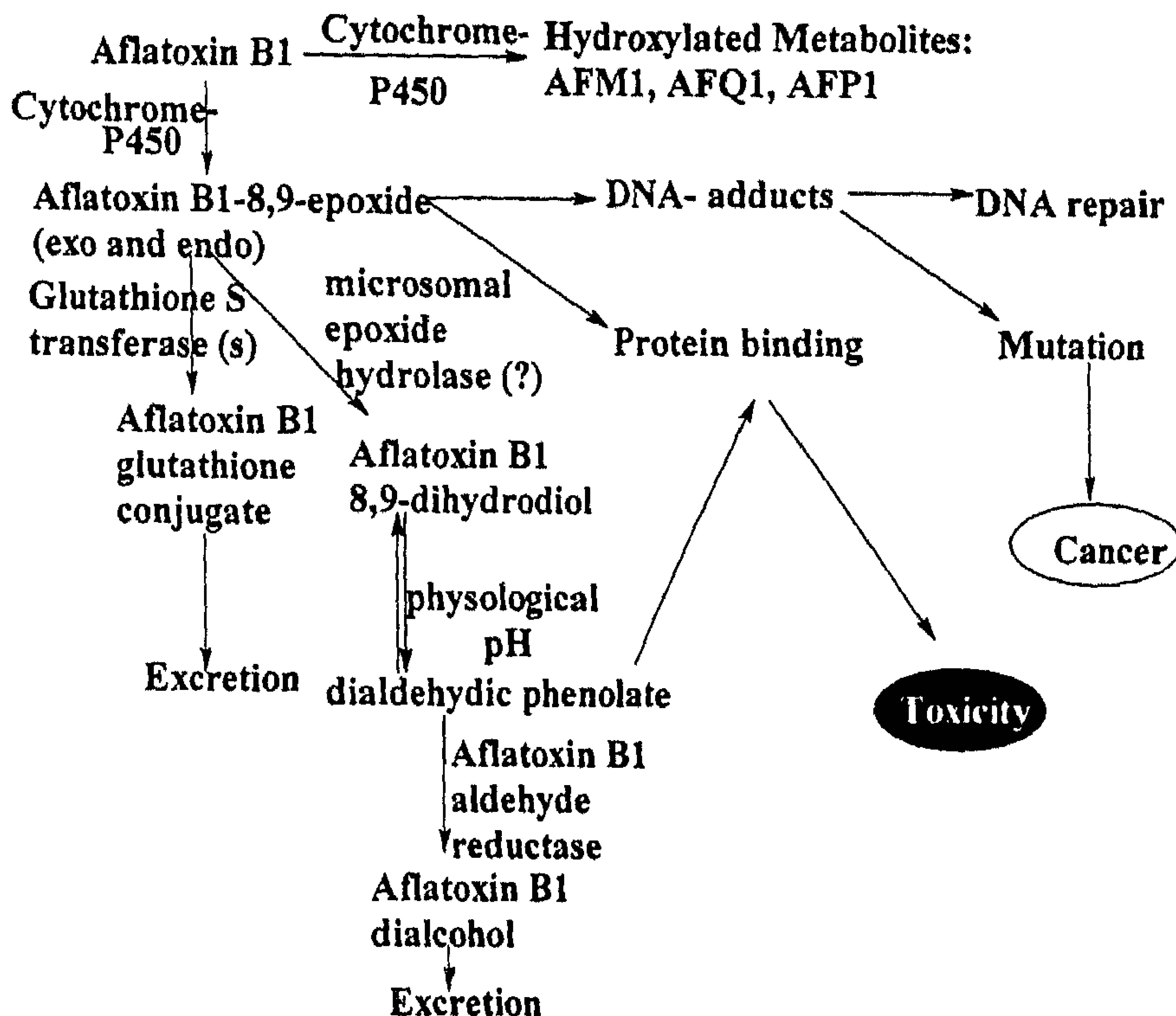
كما وجد أن zearalenone يمر من غشاء الخلية ويرتبط مع إلـ estrogen receptor ثم ينتقل هذا المعقد إلى النواة ويرتبط مع nuclear receptor متخصص، وبعد ذلك يحدث estrogenic response من خلال تنشيط جيني وإنتاج mRNA .

Aflatoxins

الأفلاتوكسين قد تلوث كثير من المحاصيل مثل الفول السودانى، الذرة، بذور القطن، الفستق، لب جوز الهند المجفف، التين بمدى واسع من التلوث فى المناطق الحارة والرطبة فى العالم.

والأفلاتوكسين توجد فى صور كيميائيه مختلفة يرمز لها بالرموز B1, B2, G1, G2 and M1

طرق التحول الحيوى لأفلاتوكسين B1 شكل: (٩)



B,G ترجع إلى blue or green fluorescence الملاحظه عند تعرض الماده السامه إلى إشعاع U.V.

M1 هو الميتابوليت الدائم لـ AB1 فى اللبن من رضاعة الانسان والحيوانات التى تستهلك AFB1 الملوث للغذاء أو العلف أو AFB1 ومخلوطاً من B1, G1, M1 تعتبر مسببات سرطانية للإنسان.الصيغة الجزينية للأفلاتوكسين M1 هى $C_{17}H_{12}O_7$ والوزن الجزيئى النسبى هو 328 Da .

AFB1 يتحول بواسطة الكبد خلال نظام إنزيم Cytochrom P450 إلى AFB1-8-9-epoxide (AFBO) المسبب الرئيسى,

للسرطان أو إلى الصورة الأقل فى أحداث الطفرات مثل AFM2,
Q1, or P1 كما هو مبين. يوجد طرق مختلفة يسلكها AFBO هى:
أولا : الطريق الأول يؤدى الى السرطان .
ثانياً: الطريق الثانى يؤدى إلى إحداث السمية.
ثالثاً: الطريق الثالث: الإخراج excretion

- Exo-form-AFBO يرتبط بسرعة مع الجزيئات الخلوية الكبيرة cellular macromolecules مشتملة المادة الوراثية مثل البروتينات والـ DNA لتكوين مركب إضافة وسطى DNA-adducts عن طريق الارتباط عند N^7- guanine الذى يؤدى إلى طفرات جينية وسرطان، وتوجد دراسات أن AFBO يحفز تحويل الجوانين إلى ثيامين عند النيكليوتايد الثالث.

يمكن تثبيط تكوين AFBO خلال تعطيل نظام cytochrom P450 او تكوين المركب الوسطى المرتبط وذلك لمنع هذه الطفرات. وفى نماذج حيوانيه فإن إزالة سميه AFBO تتم عن طريق تحفيز glutathione S-transferase (GST) حيث أن هذا الإنزيم يساعد تفاعل ارتباط الجلوتاثيون مع AFBO ويجعله غير مسبب سرطانى، ومن المهم ملاحظة أن الـ mice المقاومة للأفلاتوكسين المسببة للسرطان بها GST بنشاط أعلى من 3 - 5 مرات عن الـ rats الحساسة، أما الإنسان فيحتوى GST أقل نشاطاً عنه فى الـ rats.
التأثير السام على المناعه Immunotoxicity يظهر على الأرجح نتيجة تعرض الإنسان للـ AFB1 والذى فيه lymphocyte function تقف أو تتأثر بواسطة هذا السم الفطرى.
ومن ناحية اخرى فإن التحول الحيوي او الميتابولزم لدخول أى مادة غريبة للكائن xenobiotics هى عملية تؤدى الى تحويل الجزئ الأصلى إلى مركبات أكثر ذوباناً فى الماء hydrophilic تفرز فى البول (بواسطة الكلى) أو فى الصفراء (بواسطة الكبد). وهذه العمليه تحدث فى صورتين هما phase I and phase II.

phase I يشمل انزيمات وسيطه للتحلل المائى وتفاعلات الأكسدة و الاختزال بينما phase II يشمل تفاعلات الارتباط conjugation reaction للمركب الأصلى أو المركبات المعدلة بواسطة تفاعلات phase I.

وقد يحدث تحول حيوي مباشر فى AFB_1 بواسطة تفاعلات الأكسدة والأختزال أو غير مباشر بواسطة تحولات حيوية للميتابوليت المتكونه.

معظم تفاعلات phase I AFB_1 هى تفاعلات أكسده فى وجود انزيمات Cyctochrome P450 (CYP450) ولكن أحد التفاعلات يتم فى وجود أنزيم cytosolic reductase لاختزال AFB_1 إلى aflatoxicol (AFL).

phase I يشمل:

1- Hydroxylation and hydration of aflatoxin B_1

مجموعة إنزيمات CYP450s يمكن أن تنتج على الأقل 3 نواتج أحادية الهيدروكسيل من AFB_1 هى: AFM_1, AFQ_1, AFB_{2a}.

AFM_1 تم فصله فى أول الأمر من لبن الابقار والفئران التى تغذت على فول السودانى الملوث بـ AFB1. وفى حقيقة الأمر فإن AFM1 ينتج بواسطة تحضيرات microsomal liver من الدجاج التى تغذت على وجبات تحتوى 2057ppb من AFB1 لمدة 35 يوم.

AFQ ينتج من إضافة مجموعة هيدروكسيل عند الموضع 3α فى AFB1 وتم فصله من microsomal liver من القرد.

وجد أن الانزيم السائد المسئول عن تكوين AFQ1 فى إلـ human liver microsomos هو CYP3A4 ويعتبر AFQ هو الميتابوليت الرئيسى من AFB1 فى الانسان والقرود ولكنه غير أساس فى الدجاج والبط.

إضافة جزئ ماء للـ vinyl ether double bond (C_8-C_9)
فى AFB1-يكون مشتق 8-hydroxy أو hemiacetal المعروف
أيضا باسم AFB2a على وجه العموم. فإن الميتابوليت أحادى
الهيدروكسيل للـ AFB1 تعتبر إزالة لسمية AFB1 وذلك فى حاله
كل من AFB2a, AFBQ1. ولكن تكوين AFM1 لا يعتبر إزاله
للسميه حيث وجد أن له سميه خلويه cytotoxic ومسبب سرطانى
carcinogenic فى تجارب مختلفه على البط الصغير وسميته الحادة
مشابهه للـ AFB1 (12 and 16 µg/dukling for AFB1and
AFM1)على التوالى وهما يسببان أضرار مماثله فى الكبد.

2- O-Demethylation of AFB1

أحد التفاعلات الأخرى فى كبد الفئران وخنزير غنيا والأرانب فى
وجود CYP450. هو 4-O-demethylation of ABF1 ويتكون
ناتج فينولى تم فصله من بول القرود يسمى AFP1 (P من الكلمه
primate وهى نسبة إلى الحيوان الرئيسى من الثدييات). AFP1
يمكن إضافة مجموعة هيدروكسيل له عند الموضع 9a لتكوين
المركب 4, 9a-dihydroxy aflatoxin B1 (AFM1-P1) على
الرغم أن هذا المركب يمكن أن يتكون من AFM1 . والمركب
AFP1 يعتبر ناتج إزالة للسميه. بسبب أنه يرتبط بكفاءة مع
.glucuronic acid

3- Epoxidation of AFB1

الـ Epoxidation لرابطة vinyl ether الموجودة فى الـ
furofuran ring فى الـ AFB1 هو أحد طرق التحول الحيوى
لينتج AFB1 – exo – 8,9 – epoxide (AFBO) وهذا المركب
غير ثابت عالى الفعالية له فترة نصف عمرحوالى ثانية واحدة فى
محلول منظم متعادل، وتأثيره السام يكون بواسطة ارتباطه مع
المكونات الخلوية وعلى وجه الخصوص المواضع المحبة للشحن
الموجبة فى البروتين، DNA، RNA. ويعتبر AFBO هو الصورة
النشطة المسئولة عن التأثير السرطانى والطفرى للـ AFB1. يتكون

أيضا صورة غير فعالة من AFB1 – endo – 8,9 – epoxide بواسطة ميكروسومات الإنسان والفئران.
وبمجرد تكوين AFBO يتحلل مائيا تلقائياً أو فى وجود عوامل مساعدة ويتكون AFB1 – 8,9 – dihydrodiol (AFB1- dhd) أو قد يرتبط مع GSH.

4- Reduction of AFB1

مجموعة الكربونيل على ذرة الكربون C1 الموجودة فى الـ cyclopentanone يتم اختزالها الى مجموعة هيدروكسيل ويتكون المشتق المقابل AFL cyclopentanol وهذا التفاعل يتم بمساعدة cytosolic NADPH dependent enzyme، وتكوين AFL لا يعتبر ناتج إزالة لسمية AFB1 فهو مسبب سرطانى وطفرى وهو سام للأرانب وذلك مرتبطاً بحساسية بعض الأنواع للـ AFB1. مركب AFL له قدرة على تحفيز تكوين DNA adduct بسبب أن الرابطة المزدوجة بين $C_8 - C_9$ مازالت موجودة فيه. وفى النهاية فإن ارتباط AFL مع glucuronic acid أو sulfate يعتبر تفاعل إزالة للسمية بقوة بسبب أن هذه الخطوة سوف تمنع AFL من التحول إلى AFB1.

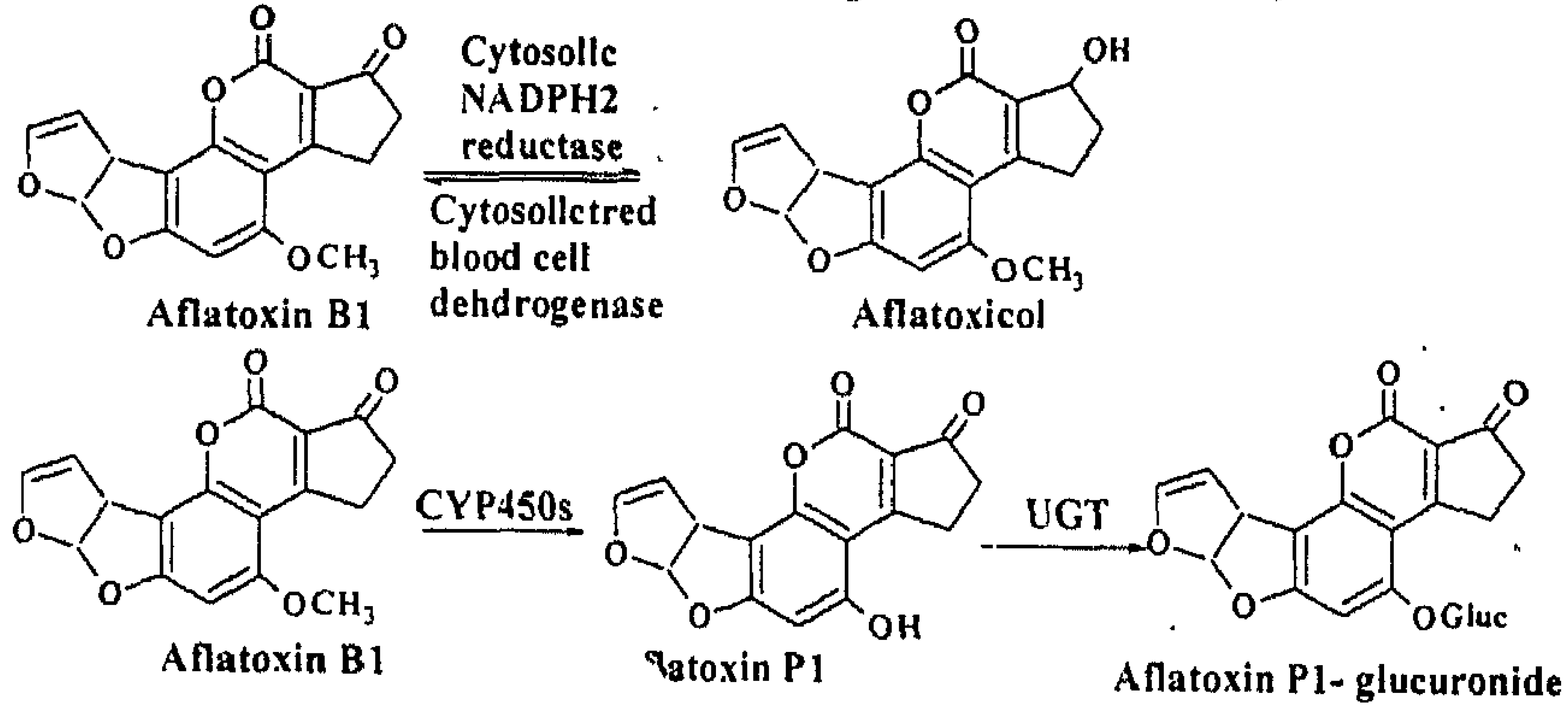
5- Reduction of AFB1 metabolites

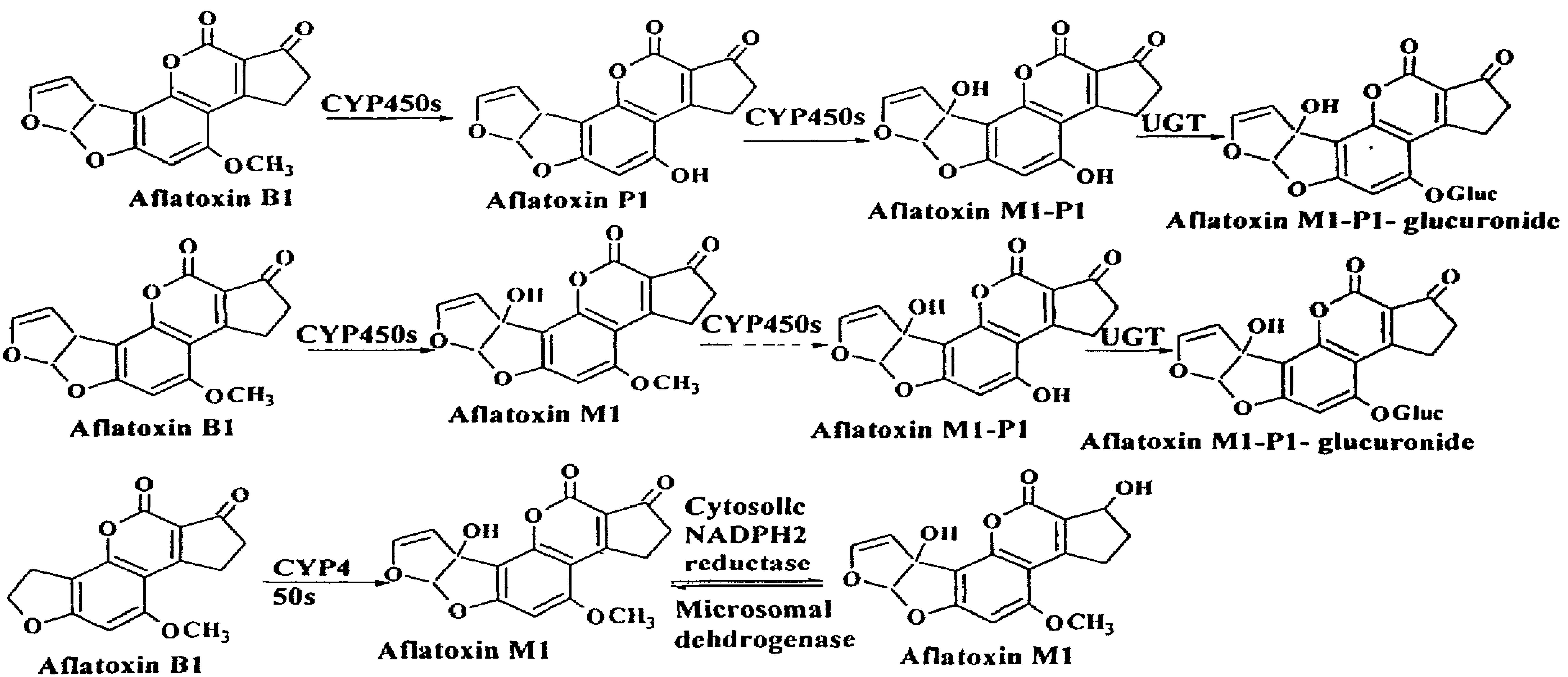
يتم اختزال الـ hydroxylated metabolites مثل AFM1,AFQ1 فى تفاعل مماثل لإختزال AFB1 إلى AFL وتنتج ميتابوليت تسمى aflatoxicol M1 and H1 على التوالى. المركب aflatoxicol H1 هو أحد النواتج الحيوية الرئيسسية من AFB1 التى تنتج بواسطة كبد الإنسان وأحد أنواع القرود فى الهند . المركب aflatoxicol M1 يمكن أن ينتج من AFL ويمكن أن يتأكسد إلى AFM1 بواسطة نشاط انزيم:
carbon monoxide – insensitive dehydrogenase المتواجد مع ميكروسومات كبد الإنسان.

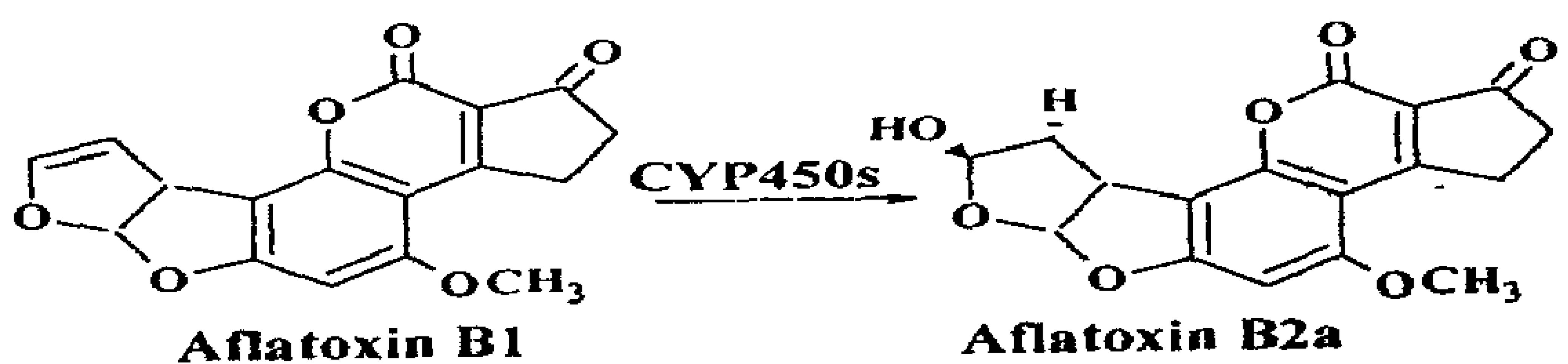
Phase II metabolism of AFB1 :

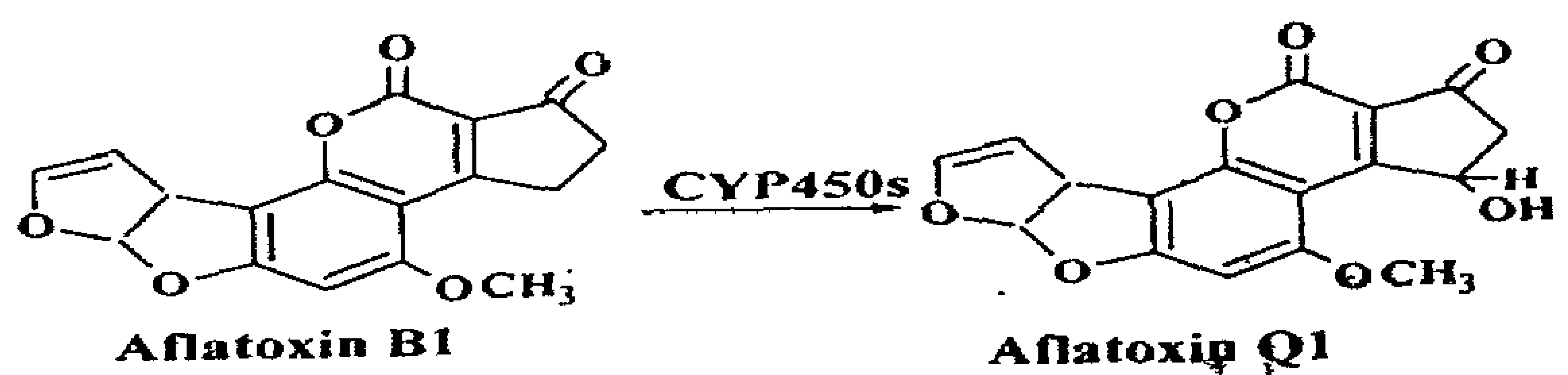
معظم تفاعلات التحولات الحيوية التى تمت فى phase II لأى ميتابوليت للـ AFB1 هى عملية ارتباط محب للشحن الموجبة الذى فيها GSH يتفاعل مع الميتابوليت AFBO المحب للشحن السالبة. ويتم ارتباط AFBO مع GSH فى وجود انزيمات glutathione transferases. وفى هذه التفاعلات فأن أنيون GSH tholate يشارك كجوهر محب للشحن الموجبة. ومن ناحية أخرى يوجد تفاعل ارتباط آخر هو الارتباط التبادلى بين AFP1 و الميتابوليت الناتج منه 9a – hydroxy (aflatoxin M1 – P1) مع glucuronic acid وقد سجل ذلك فى الفئران ويؤدى الى إزالة السمية.

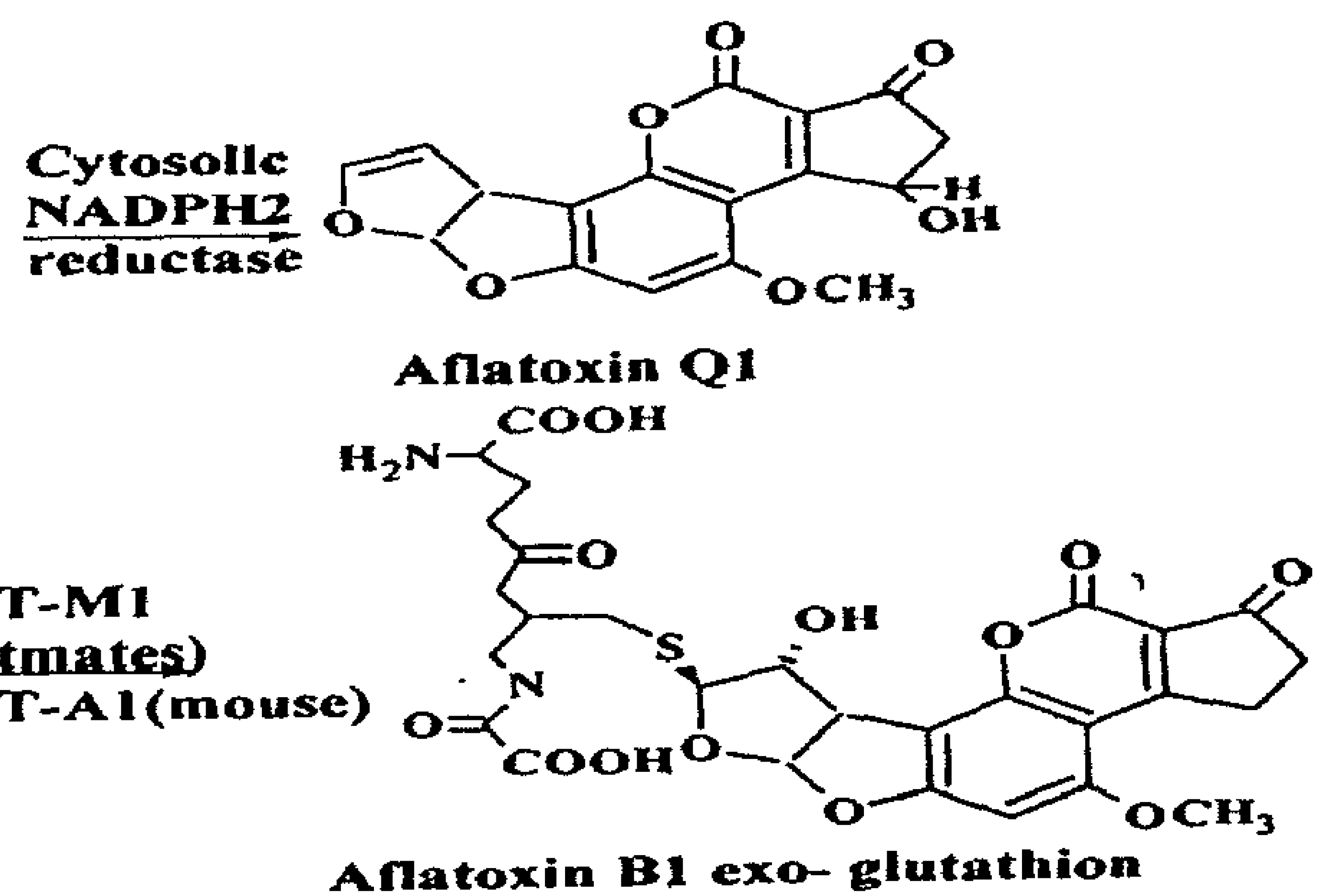
ويمكن تمثيل ذلك فى المعادلات التالية تفاعلات التحول الحيوى لـ AFB1 فى الدجاج والثدييات بما فيها الإنسان. مجموعة CYP450s فى هذه التفاعلات تشمل CYP1A1, CYP1A2, CYP2A6, CYP3A4 كالآتي :

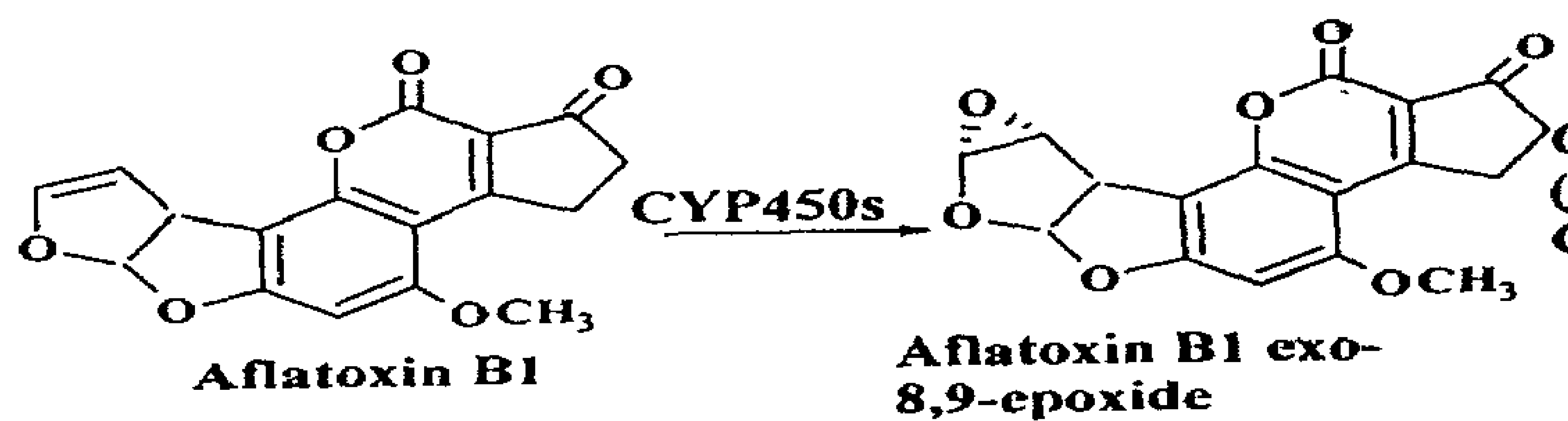


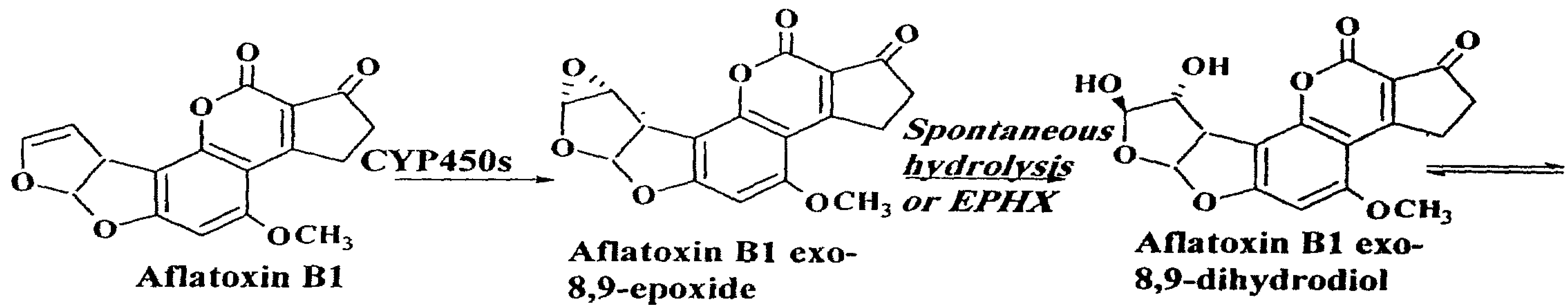

Aflatoxin B1
CYP450s
Aflatoxin P1
CYP450s
Aflatoxin M1-P1
UGT
Aflatoxin M1-P1- glucuronide
Aflatoxin B1
CYP450s
Aflatoxin M1
CYP450s
Aflatoxin M1-P1
UGT
Aflatoxin M1-P1- glucuronide
Aflatoxin B1
CYP4
50s
Aflatoxin M1
Cytosolic
NADPH2
reductase
Microsomal
dehdrogenase
Aflatoxin M1

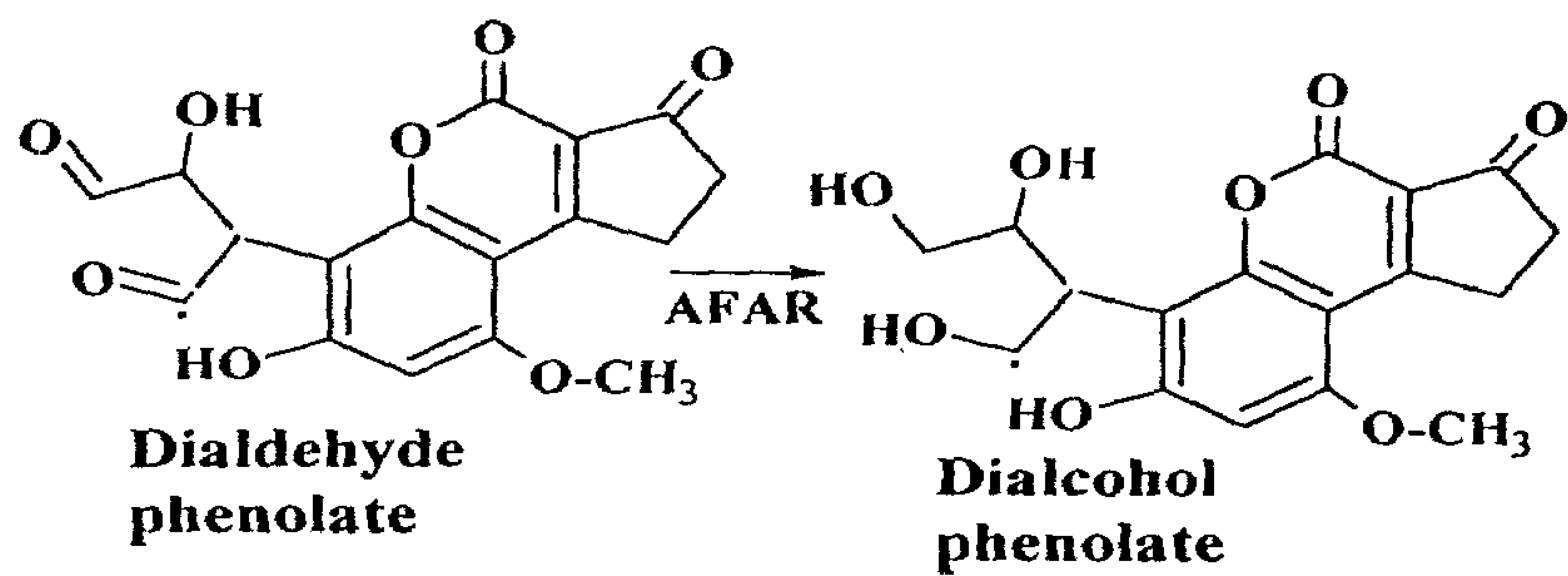

HO
H
CYP450s
OCH_3
Aflatoxin B1
Aflatoxin B2a


CYP450s
H
OH
OCH_3
Aflatoxin B1
Aflatoxin Q1
Cytosolic
NADPH2
reductase


H
OH
OCH_3
Aflatoxin Q1
H_2N
COOH
S
OH
N
COOH
Aflatoxin B1 exo- glutathion


CYP450s
OCH_3
GST-M1
(prtmates)
GST-A1(mouse)
Aflatoxin B1
Aflatoxin B1 exo-
8,9-epoxide


CYP450s
Aflatoxin B1
Aflatoxin B1 exo-8,9-epoxide
Spontaneous hydrolysis or EPHX
Aflatoxin B1 exo-8,9-dihydrodiol
OCH3

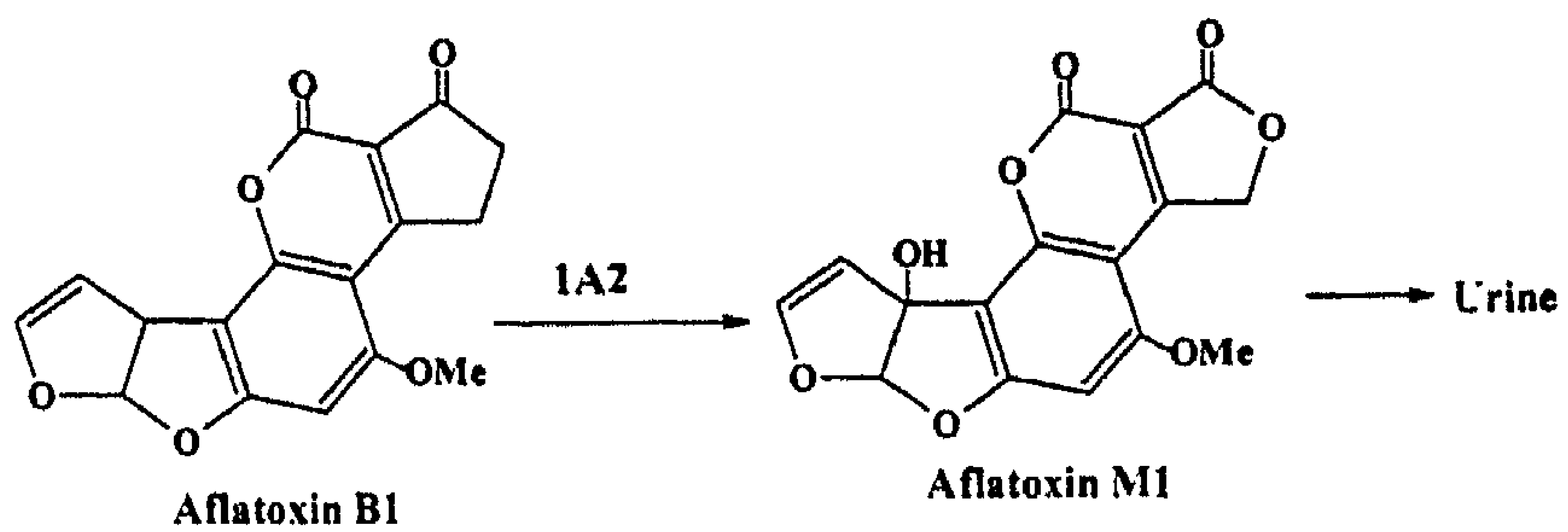

AFAR
Dialdehyde phenolate
Dialcohol phenolate
O-CH3

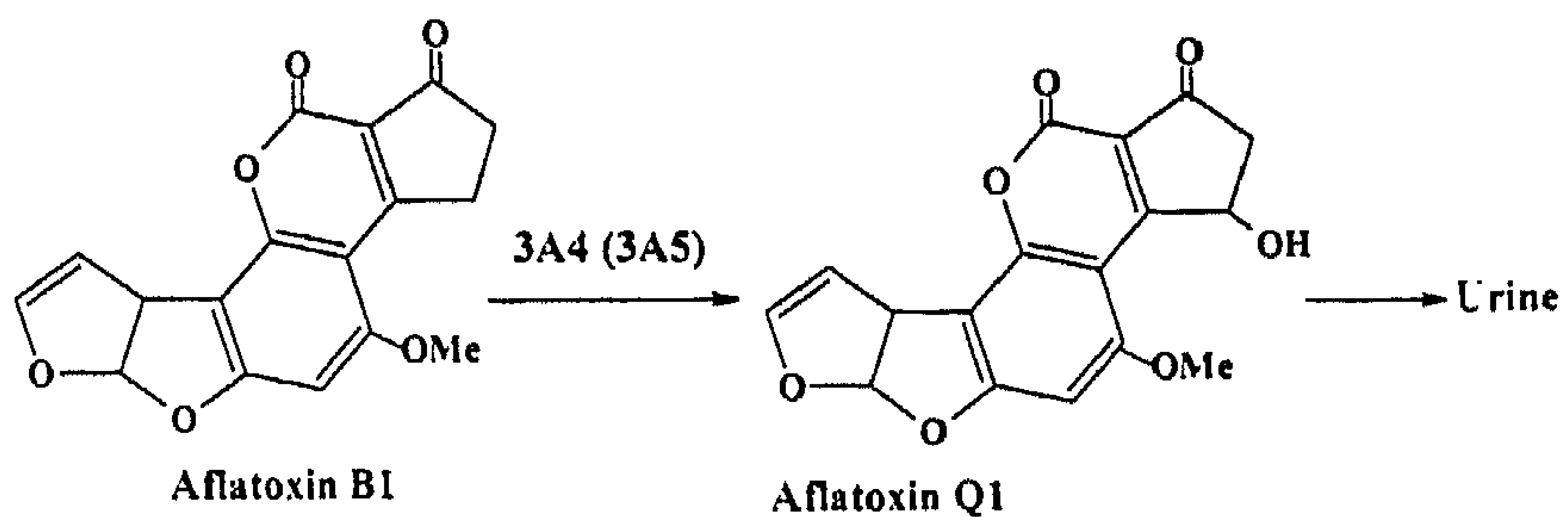
ويوجد مقترح آخر للتحولات الحيوية لـ AFB1 هى:

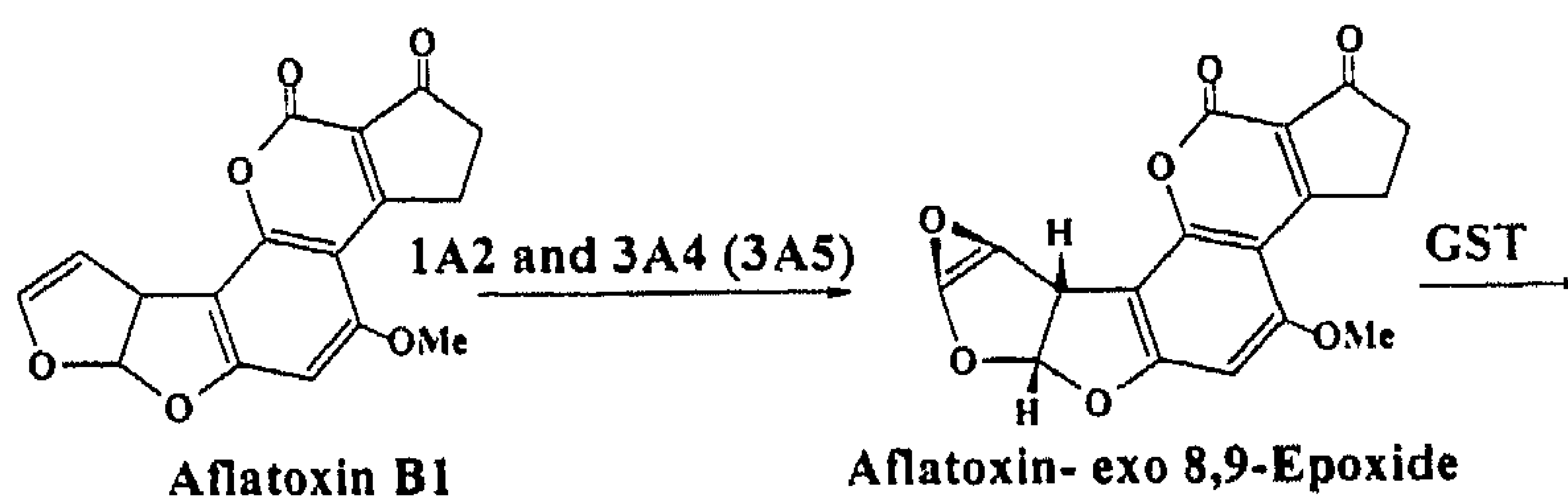
يتم تنشيط AFB1 بواسطة P450 cytochrome إلى AFB1 -8,9- endo - expoxide ،AEB1-8,9-exo-epoxide ولكن إلـ exo- epoxide ترتبط مع DNA لتكوين:
(AFB1 8,9-dihydro-8-(N^7-guanyl) -9-hydroxy-AFB1 – N^7 – Gua) adduct الأكثر سائدية.
AFB1-N^7-Gua يسبب الخواص الطفريه للمركب.
إرتباط exo-epoxide مع الجوانين يظهر هندسية التداخل بين زوج القاعدة فى إلـ DNA.
الأفلاتوكسين AF2, AFG1, AFG2 أقل تكوينا لـ epoxidation ونتيجة لذلك تكون أقل سمية وأقل تكويناً للسرطان والطفرات عن AFB1 . وجد أن AFG1-8,9-epoxide له قابليه قليله للتداخل مع إلـ DNA بسبب أن تعديل تركيب الحلقة يقلل المسطح.
AFB1 علامة حيوية biomarkers مفيدة لتعرض الإنسان للأفلاتوكسين، وتم اكتشاف AFM1, AFQ1, AFP1 فى عينات من بول الإنسان.

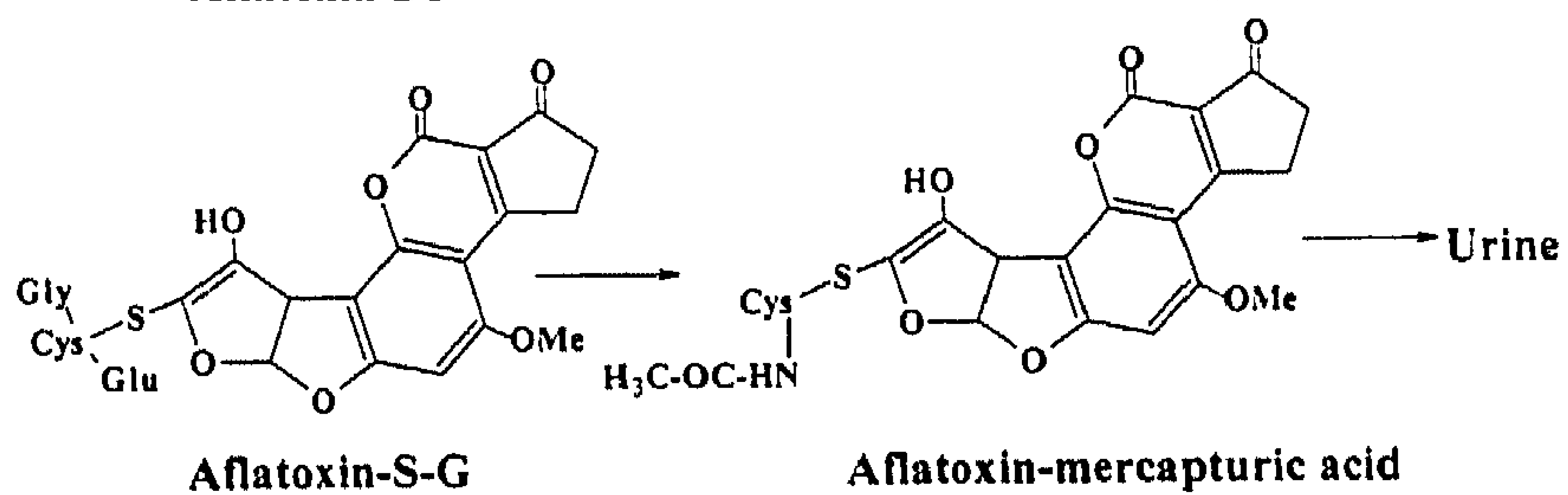
والمعادلات التالية توضح ميتابولزم الأفلاتوكسين AFB1 مؤدياً الى عدد من الميتابوليت النشطة وعلامات حيوية biomarkers فى وجود مجموعة إنزيمات السيتوكروم فى ميتابولزم الأفلاتوكسين فى الإنسان مثل:

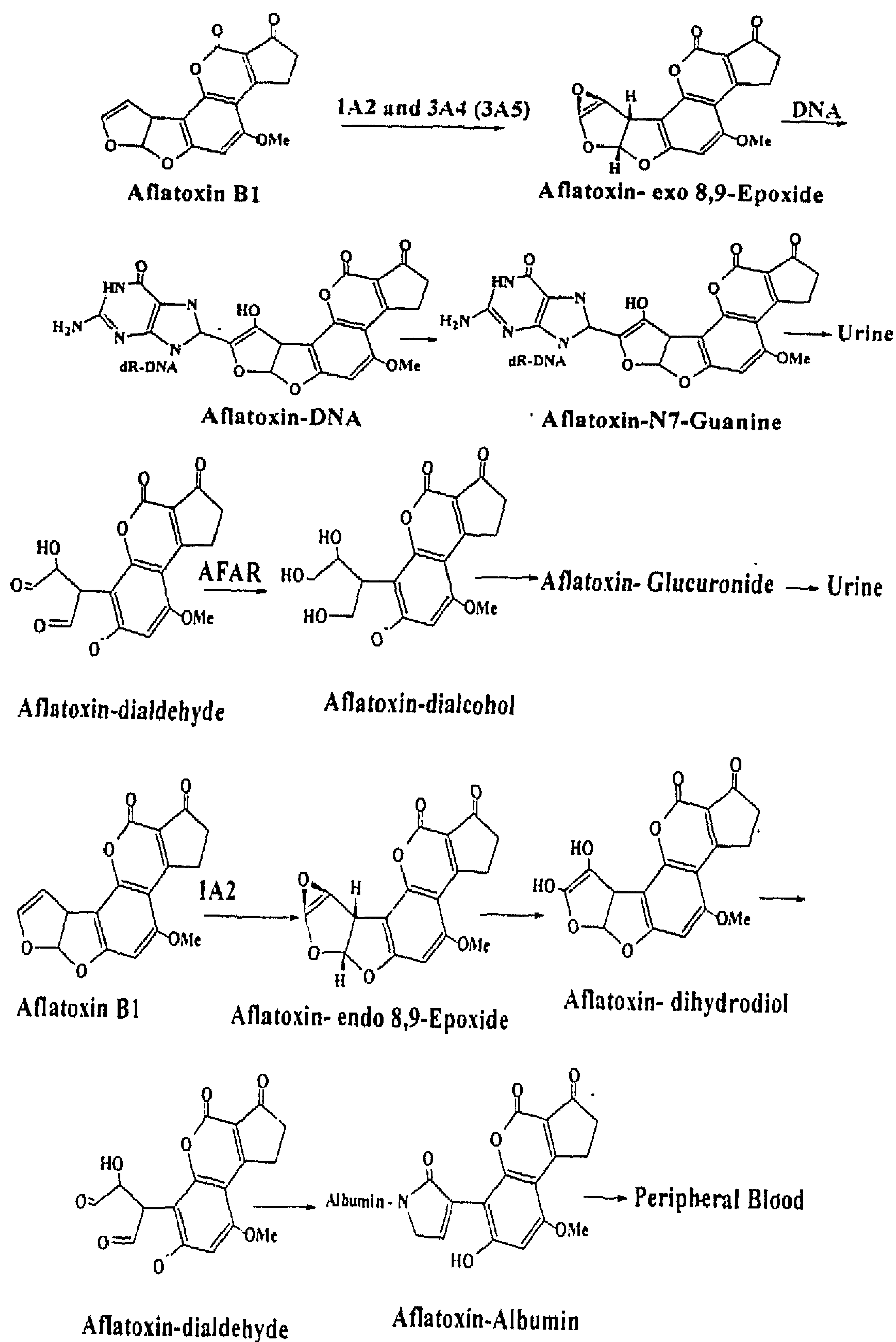
1A2, CYP1A2; 3A4, CYP3A4; 3A5 CYP3A5:
GST,glutathione transferase; AFAR,aflatoxin aldehyde reductase; aflatoxin-S-G,aflatoxin glutathione conjugate.


1A2
Urine
OMe
OH
Aflatoxin B1
Aflatoxin M1


3A4 (3A5)
Urine
OMe
OH
Aflatoxin B1
Aflatoxin Q1


1A2 and 3A4 (3A5)
GST
OMe
H
Aflatoxin B1
Aflatoxin- exo 8,9-Epoxide


HO
Gly
Cys
Glu
S
OMe
Cys
H3C-OC-HN
Urine
Aflatoxin-S-G
Aflatoxin-mercapturic acid



ويمكن القول أن AFB1 -8,9- endo - expoxide الناتج من ميتابولزم أفلاتوكسين AFB1 يحدث له نفس التحولات تحت نفس الظروف مثل AEB1-8,9-exo-epoxide .

*** بعض طرق تصنيع الغذاء قد تؤدى إلى خفض أو التخلص من الأفلاتوكسين فمثلاً الفول السودانى المحمص يؤدى إلى خفض القدرة على اكتشاف الأفلاتوكسين كيميائياً عن الغليان. المعاملة القلوية للذرة تؤدى إلى خفض معنوى للأفلاتوكسين.

Trichothecens:

يوجد عدد 180 من trichothecens ولكن عدد قليل معنوياً ضار لصحة الإنسان أول هذه المشتقات Deoxynivalenol (DON) وهو السائد بدرجة كبيرة فى غذاء الإنسان.
عموما تنقسم إلـ trichothecens الى مجموعتين :

: Type A

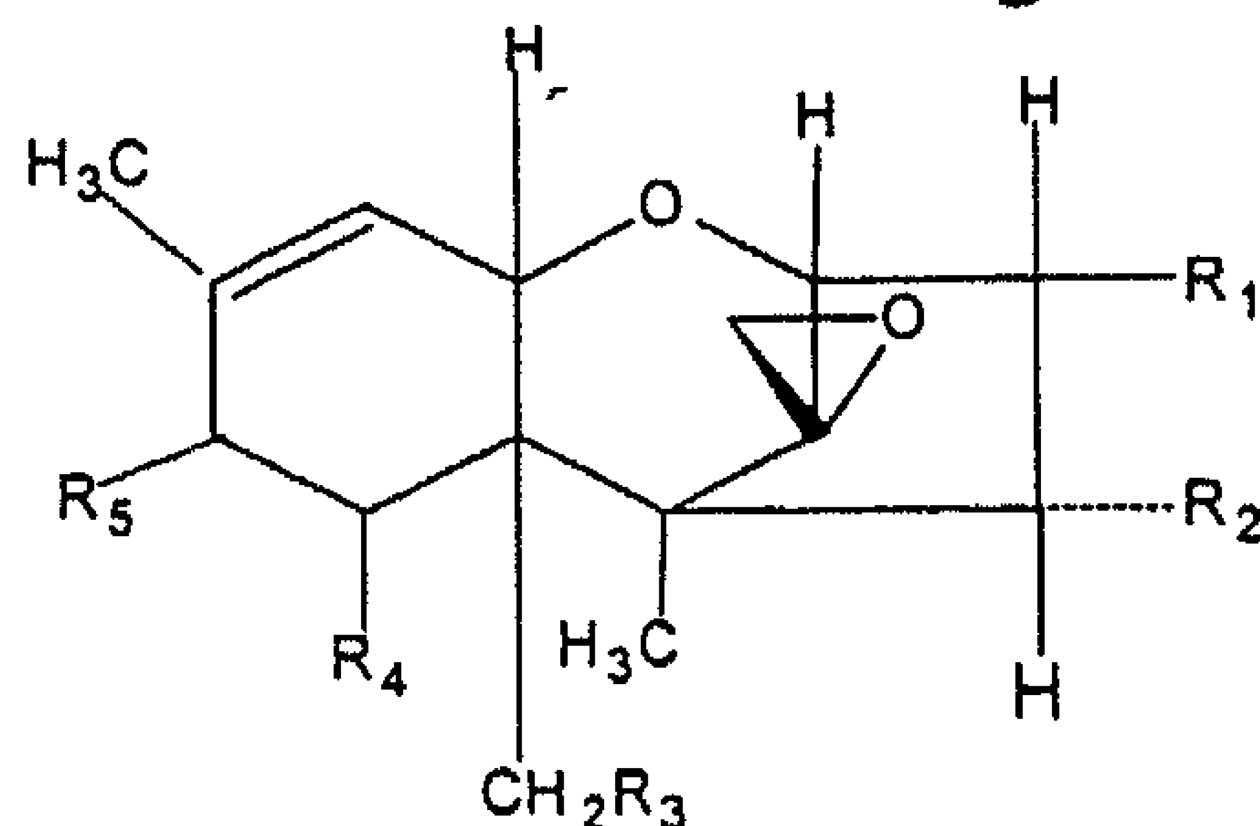
T-2 toxin, diacetoxyscripenol
تتميز بوجود مجاميع فعالة غير كيتونية عند C-8

: Type B

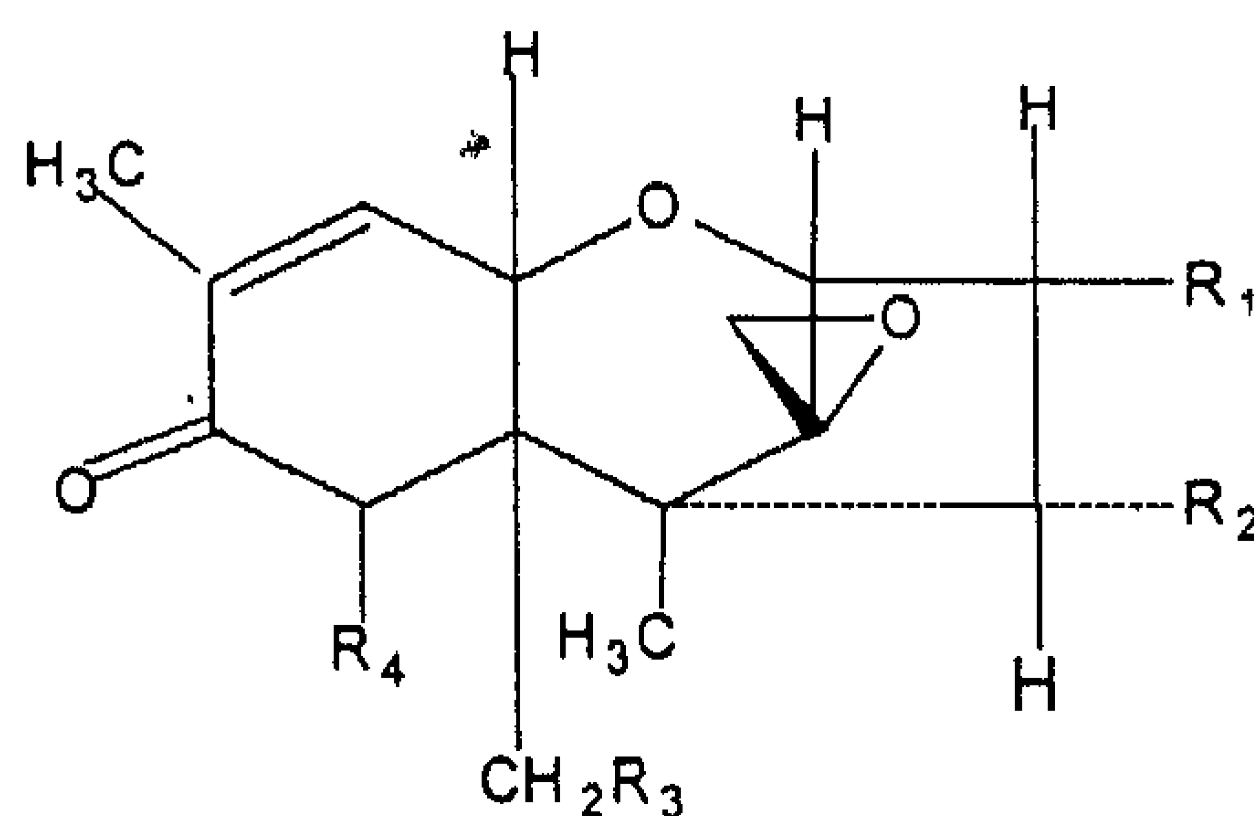
nivalenol, , 3- acetyl-DON(fusarenon – x)
Deoxynivalenol (DON)
تتميز بوجود مجموعة كيتونية عند C-8
T-2 toxin, diacetoxyscripenol تذوب في المذيبات غير القطبية ، بينما nivalenol, , Deoxynivalenol (DON) تذوب في المذيبات القطبية مثل الكحول.

والتركيب العام للـ trichothecens هو:

المجاميع المستبدلة على إل Trichothecenes



	Molecular formula	R1	R2	R3	R4	R5
Diacetoxyscripenol	$C_{19}H_{26}O_7$	OH	OAc	OAc	H	H
T-2 Toxin	$C_{24}H_{34}O_9$	OH	OAc	OAc	H	$OCOCH_2CH(CH_3)_2$
HT-2 Toxin	$C_{22}H_{32}O_8$	OH	OH	OAc	H	$OCOCH_2CH(CH_3)_2$
Macrocyclics		H	–O–R'–O–		H	H



	Molecular formula	R1	R2	R3	R4
Deoxynivalenol	$C_{15}H_{20}O_6$	OH	H	OH	OH
Nivalenol	$C_{15}H_{20}O_7$	OH	OH	OH	OH
Fusarenon X	$C_{17}H_{22}O_8$	OH	OAc	OH	OH
Macrocyclics		H	–O–R'–O–		H

R' = Macromolecules ester or ester – ether bridge between C_4 and C_{15} .

والـ trichothences تشكل مجموعه كيميائيه تسمى Sesquiterpenoids.

- هذه السموم الفطرية من مجموعة trichothecens غير متطايرة لها وزن جزيئي منخفض (MW 250-550)، عديمة الذوبان فى الماء، عالية الذوبان فى الأسيتون، خلات الايثايل، الكلوروفورم، وثانى مثايل سلفوكسيد (DMSO)، إيثانول، ميثانول، بروبايلين جليكول propylene glycol.

- المواد النقية منها لها ضغط بخارى منخفض ولكنها تتبخر فى خاله تسخينها فى المذيبات العضوية.

- استخلاص trichothecens mycotoxins من البيئات الفطرية بالمذيبات العضوية ينتج سائل أصفر بنى والذى يتبخر يكون ناتج بلورى أصفر زيتى المظهر أما السموم عالية النقاوة تكون نواتج بلوريه بلون أبيض لها درجات انصهار مميزه لها.

- عند حفظها إما فى صورة مسحوق بلورى أو محاليل سائله فإن هذه المركبات تكون ثابتة عند تعرضها للهواء أو الضوء أو كلاهما معاً.

- هذه السموم الفطريه لا تصبح غير نشطه بواسطة الأوتوكلاف ولكن يلزم تسخينها عند 900°F لمدة 10 دقائق أو 500°F لمدة 30 دقيقه لكى تصبح غير نشطه.

- محلول 3% - 5% sodium hypochlorite جوهر فعال جداً لتحويلها إلى صور غير نشطه ويمكن زيادة فعاليه هذا المحلول بواسطة إضافة كميات قليله من قلوى.

Trichothecene mycotoxins سامه للإنسان والحيوانات الأخرى والطيور، السمك وكثير من اللافقاريات، النباتات، eukaryotic cells.

Trichothcene mycotoxins هى cytotoxic لمعظم خلايا eukaryotic cells لوحظ تثبيط تخليق البروتين فى خلايا Vero cells بعد 5 دقائق من التعرض T-2 toxin.

- كذلك ثبت أن هذه المركبات تعمل على تثبيط إما عمليه بداية أو استطالة الانتقال بواسطة التداخل مع نشاط إنزيم peptidyl transferase.

- تؤدى إلى تثبيط قوى لتخليق RNA بنسبة 86% تثبيط فى خلايا الإنسان (Hela). وكان T-2 toxin له أقل تأثير لتثبيط RNA (15%) فى الـ Vero calls. وهذا التأثير على الـ RNA هو التأثير الثانوى لتنشيط تخليق البروتين.
- وجد أنه يتم تثبيط تخليق الـ DNA فى أنواع مختلفة من الخلايا التى تتعرض للـ trichothecene mycotoxins فى الفئران ولكن بدرجة أقل من التأثير على تخليق البروتين.
- تؤدى الى زيادة Lipid peroxidation فى الكبد، الطحال والكلى ونخاع العظام فى الفئران المعامله بجرعه فرديه عن طريق الفم من T-2 toxins.

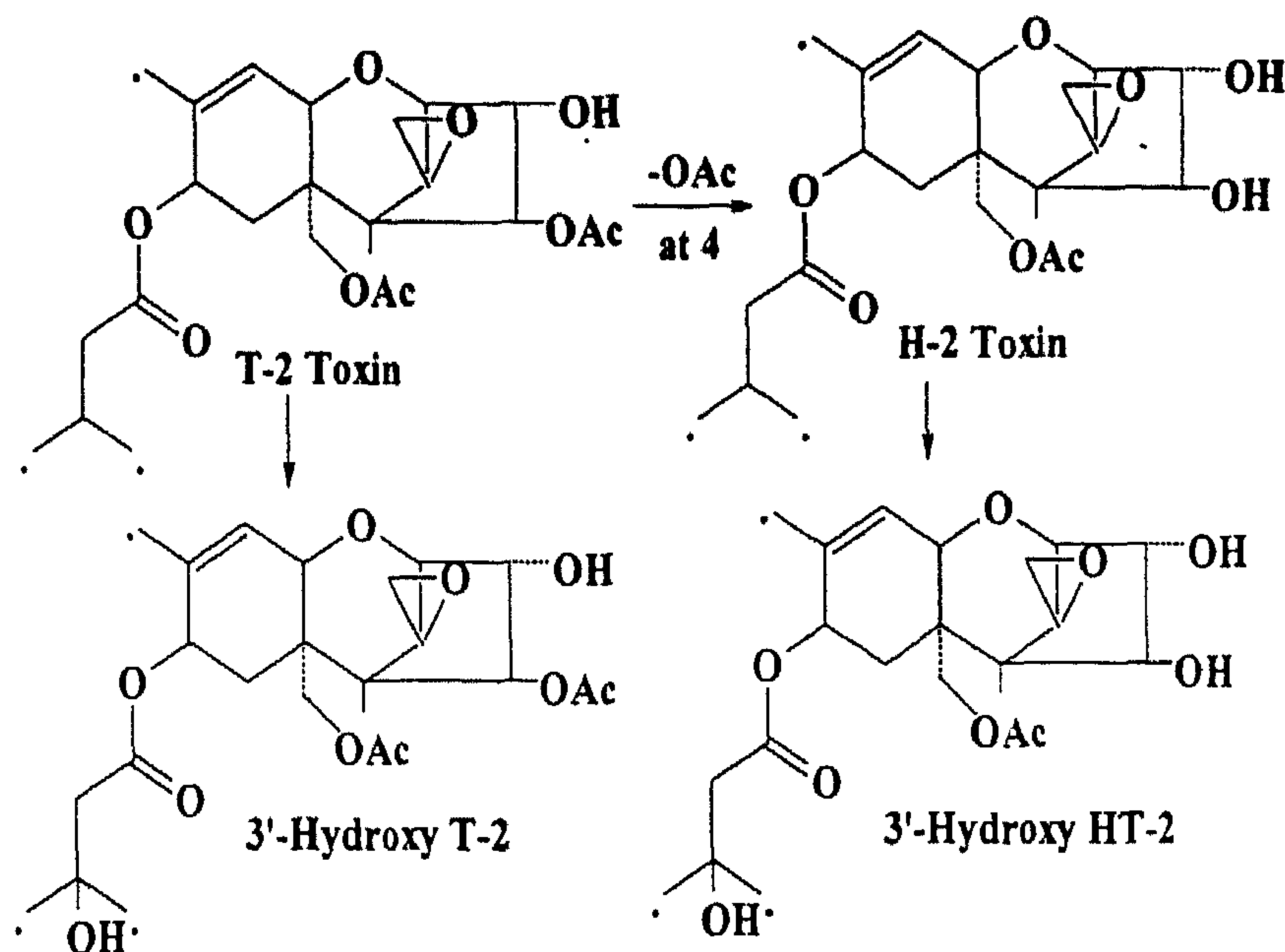
- A microsomal carboxyl esterase غير المتخصص من الكبد يحلل C_4 – acetyl فى T-2 toxin لتكوين HT-2 toxin .
- A hetpatic cytochrome P-450 هو المسئول عن المساعدة لإضافة مجموعة هيدروكسيل hydroxylation عند مواضع C_3', C_4' على السلسلة الجانبية isovaleryl فى كل من T-2 and HT-2 toxins

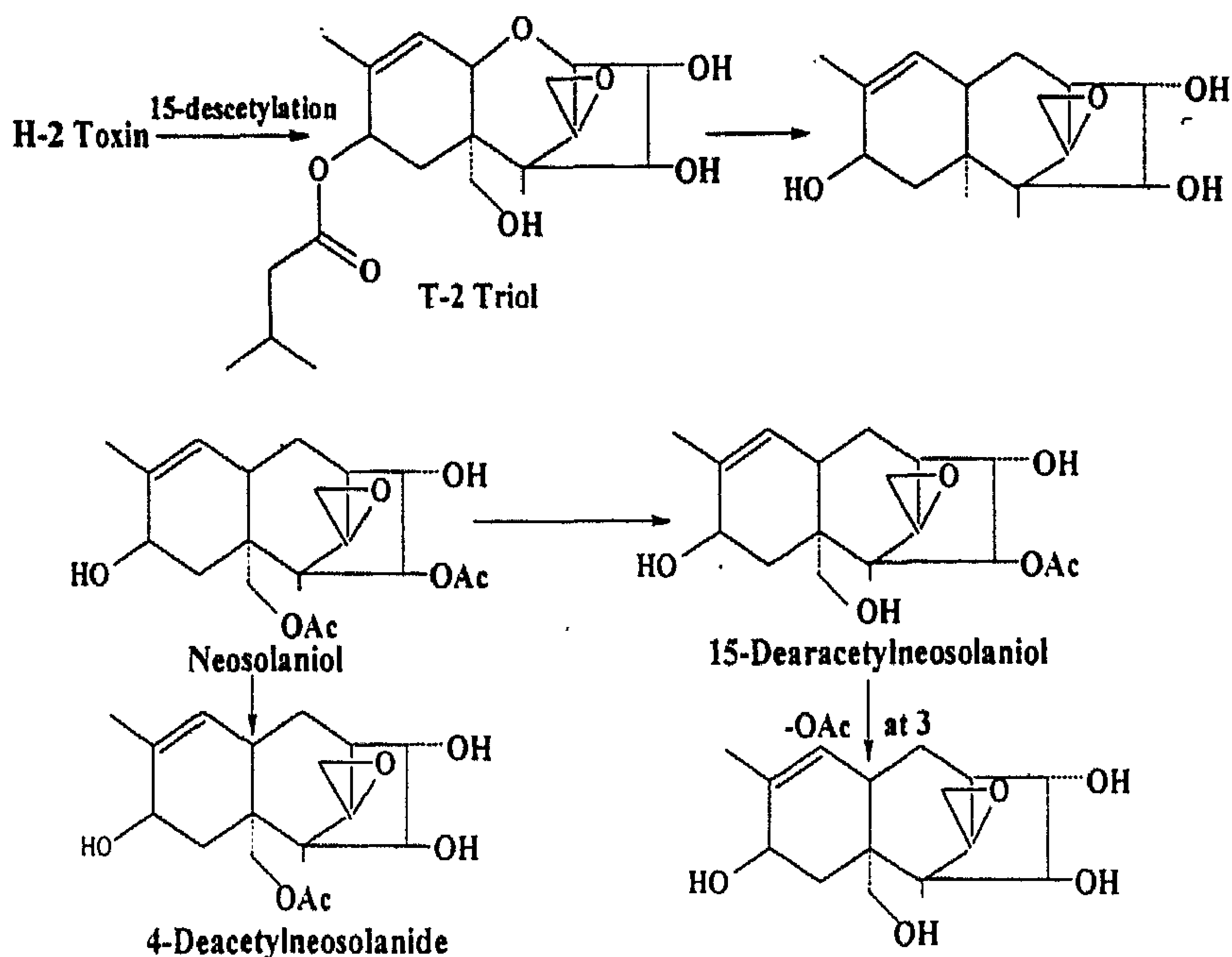
* عند إزالة ذرة اكسجين من حلقه الـ expoxide عند C-12,13 لتكوين رابطة مزدوجة (C=C) وأكسدة مواضع C-3' and C-4' على مجموعة isovaleryl فى T-2 and HT-2 Toxin يتكون مركب de-epoxy وهو غير سام وعلى ذلك فان اختزال الـ expoxide يعتبر خطوه فريدة لتفاعل إزالة سمية الـ mycotoxins trichothecene.

عموما يحدث الميتابولزم للـ trichothecenes بثلاثة طرق أساسية هى :

- Conjugation
- De-epoxidation
- Deacetylation

إلـ De-epoxidation هى الخطوة الأكثر أهمية في إزالة سمية هذه المركبات والتى يمكن أن تتم بواسطة الكائنات الدقيقة الموجودة في القنوات الهضمية في الحيوانات المجترة ، بينما الحيوانات التى تفتقد مثل هذه الكائنات الدقيقة تكون أكثر حساسية للـ trichothecenes.
والميتابوليت الخاصه بـ T2-toxin كالتالى:

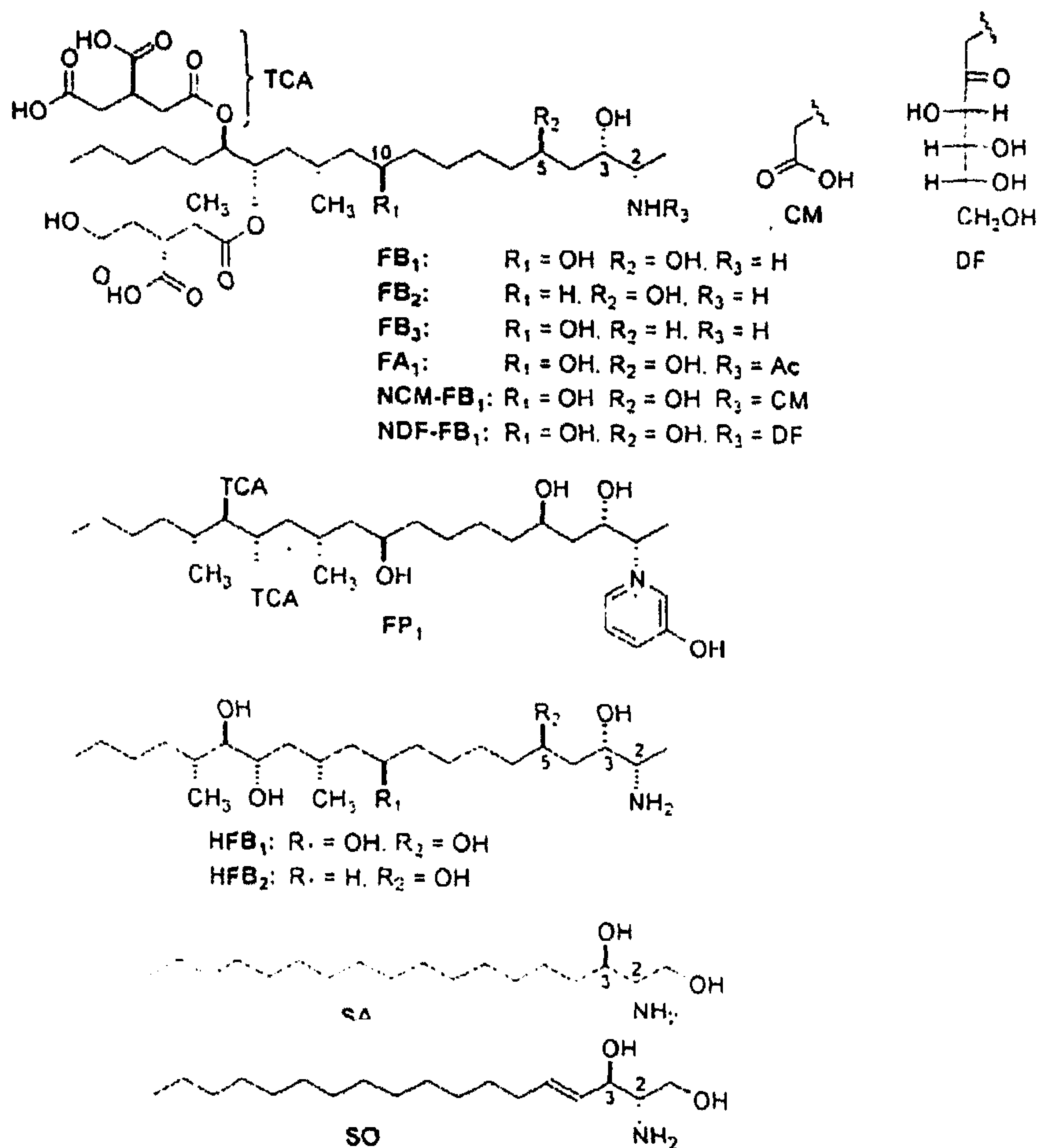




ومن ناحية أخرى فإن طرق تصنيع الغذاء الحالية لا تشارك بكفاءة فتى التخلص من DON إما عن طريق تقليل الكميه أو إزالة السمية فى غذاء الإنسان أو الحيوان.

معاملة القمح والذرة بالمواد الإضافية المعترف بها إلى الطعام، مثل sulfites المائى و غاز الأوزون فمثلا وجد أن محلول مائى من Sodium bisulfite له تأثير إختزالى عالى عن طريق التفاعل مع DON لإنتاج المركب الوسطى (DON-S) – acid-stable solfonate وهذا المركب الوسطى يتحلل مائيا فى ظروف قلوية وينتج DON. فى حالة تحميص الخبز فإن مستوى المادة السامة تزيد بنسبة % 70 – 50 وذلك نتيجة التحلل القلوى للمركب الوسطى DON – sulfonate ومن ناحية أخرى فإن مستوى DON فى الذرة يقل بقدر% 95 بواسطة عملية الـ autoclaving عند 121° C لمدة ساعة واحدة فى وجود محلول مائى من sodium bisulfate.

Fumonisins



شكل (12) : التركيب الكيميائي والشكل الفراغي للـ FBx ومشتقاته fumonisins

ويمكن توضيح المختصرات كالتالى:

Fumonisins (FBx) are diesters of ropane-1,2,3-tricarboxylic acid(TCA) and similar long – chain aminopolyol backbones :	
FB1: **2S-amino-12S,16R-dimethyl-3S,5R,10R,14S,15R pentahydroxyeicosane ,**	
FB2: **2S-amino-12S,16R-dimethyl-3S,5R,14S,15R tetrahydroxyeicosane ,**	
FB3: **Hydrolyzed FB1(HFB1)**	**FA1 :** **N- acetyl FB1**
HFB2: **Hydrolyzed FB2**	**NCM – FB1:** **N – (carboxymethyl) – FB1**
NDF – FB1: **N – (1 – deoxy- D- fructose- 1- yl) - FB1**	**SA:** **D-erthro-sphinganine**
SO: **D-erthro-sphingosine**	

تنتج بواسطة مسببات الأمراض النباتيه فى الذرة مثل :

A. proliferatum ،*Fusarium verticillioides*

الأطعمه المحتوية على منتجات مثل هذا الذرة المصاب يكون لها علاقة بالـ fumonisin فى صناعة الغذاء، وتم التعرف على عديد من مركبات fumonisins كما هو موضح فى شكل (12). ويعتبر fumonisin B (FB) هو السائد.

تعتبر الـ fumonisins عالية الذوبان فى الماء، ولا تشبه كل السموم الفطرية فى الأطعمة بسبب أنها لا تحتوى تركيب عطرى aromatic أو مجموعة chromophore هى عبارة عن أمينات أولية (بالاستبدال عند موضع واحد من ثلاثة مواضع ارتباط مع مجموعتين tricarboxylic acid التى تشارك فى ذوبانها فى الماء.

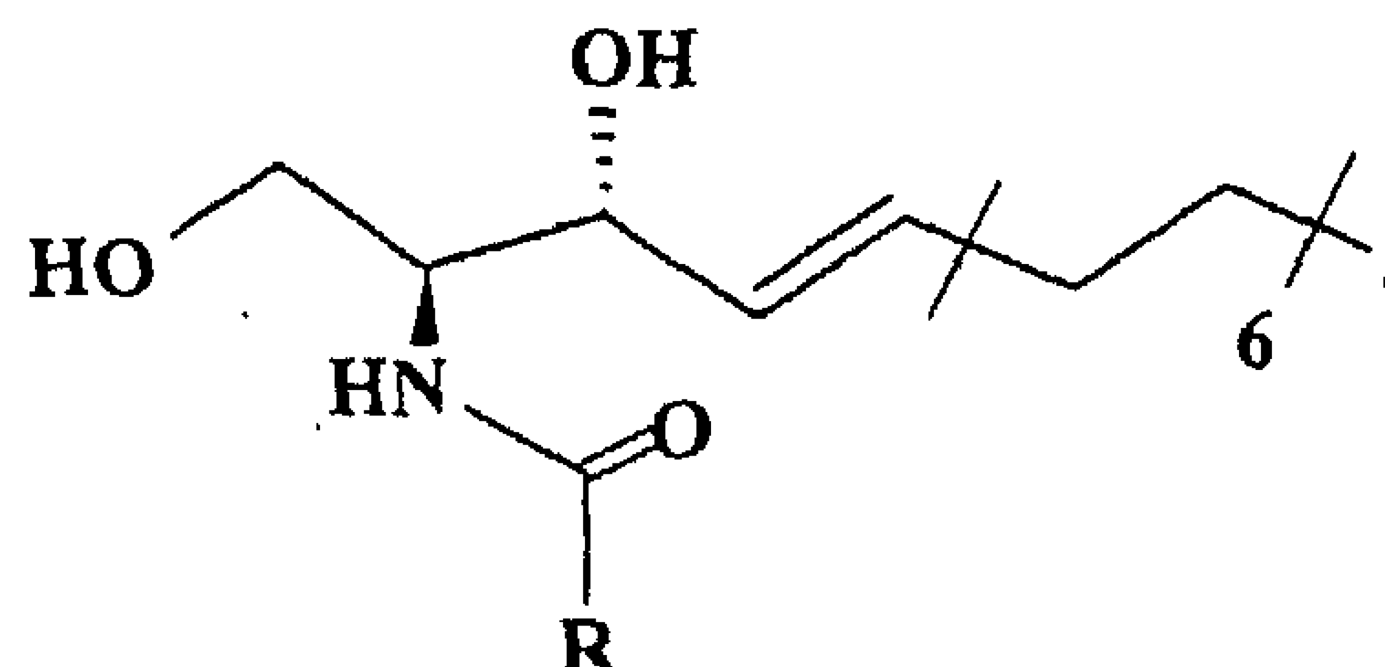
أولاً: ملخص التأثيرات التوكسيكولوجيه لبعض مركبات fumonisins ونواتج تفاعلاتها:

*** FB1 :**

- يؤثر على الجهاز العصبى المركزى فى الخيل كما يحطم خلايا مخ الخيل Equine leukoencephalomalacia.
- استسقاء رئوى فى الخنزير.
- يؤثر على الكبد والكلية، وله تأثير متسرطن فى كبد وكليه القوارض، يثبط إنزيم Ceramide-synthase , ويعوق ميتابولزم الليبيدات فى خلايا الفئران .
- توجد فى الذرة والنواتج المطهية ويذوب فى الماء ، مسبب سرطانى محتمل للإنسان

ملحوظه :

Ceramide : قد يكتب Ser-A-mid أو Seramide يتركب من sphingosine وحمض دهنى والشكل التركيبى كالآتى :



يوجد الـ Ceramide بتركيز عالى فى غشاء الخلايا، وهو أحد مكونات الليبيدات التى تشكل الـ Sphingomyelin وهو أحد الليبيدات الرئيسيه فى Lipid bilayer. وهو أحد الليبيدات النشطة حيوياً الموجود فى العمليات البيولوجية المختلفة من تنظيم نمو الخلايا إلى برمجه موت الخلايا وعدم تجديد الخلايا.

Ceramide Syssthase : (Cer S) بروتين غشاء الشبكه الاندروبلازمه

: FB2/ FB3 *

يسبب Equine leukoencephalomalacia (FB2 فى الغذاء الملوث طبيعيا)، يسبب سمية للكبد والكلية وتثبيط إنزيم ceramide synthase مثل FB1 (*in vitro*) فى الفئران rats التى تغذت على بيئة محتوية FB1 or FB2 لمدة 21 يوم. ولكن لم تظهر سميه فى الـ mice من دراسات تغذية على FB1 or FB2 لمدة 28 يوم، تثبيط ceramide syntheses (*in vitro*) وذلك نتيجة التواجد المشارك للـ FB1 ولكن فى العادة عند تركيزات منخفضة.

Hydrolyzed FB1 (HFB) *

دراسات تغذيه hydrolyzed cultural material feeding:

- تشجيع ورم الكبد فى الـ rats.
- سميه الكبد والكلية، تثبيط ceramide synthase فى الـ rats ولكن لم توجد سميه فى كل من rats or mice (دراسات تغذيه لفترة قصيرة) .
- تثبيط الـ Ceramide synthase أقل قوه من FB1.
- هذا المركب يتكون بواسطة التحلل المائى فى وجود قلوى للـ FB وهذا التحلل المائى يزيل مجاميع TCA.
- الأكثر قوة من FB1 فى بعض اختبارات السمية ينطلق LDH.
- الاستبدالات لقاعدة sphingoid base كمادة تفاعل لإنزيم ceramide synthase يساعد تكوين N- acylaminopentols (*in vitro* and *in vivo* in rats).

: N-Acetyl FB1 (FA1) *

- لم يحدث سميه للـ mice لمدة 28 ساعة تغذيه.
- لم يثبط إنزيم ceramide synthase .
- FA1، FA2 لاتبدأ ولاتشجع نشاط سرطان الكبد فى الـ rats.
- يوجد بكميات صغيره، يعاد تنظيمه إلى O-acetyl FB1 الذى يثبط انزيم ceramide synthase (*in vivo*).

*** Browring reaction products**
- يحدث عند تسخين FB1 فى وجود الجلوكوز أو أى جواهر مختزله. الناتج الأول مثل قاعدة شيف التى تدخل فى إعادة تنظيم NDF – FB1، NCM – FB1.

*** (NDF–FB1)N-(1-Deoxy–D–fructose – 1 – yl)FB1.**
- يتكون عند تفاعل FB1 مع reducing sugar ويتم التعرف أولا على ناتج ثابت من fumonisin ومن خلال تكوين قاعدة شيف يتكون NDF – FB1 الذى يعاد تنظيمه إلى NCM – FB1 ويتكون NDF – HFB1 بواسطة التحلل المائي فى وجود قلوى إلى NDF – FB1.

*** N-(cerboxymethyl) - FB1(NCM- FB1)**
لم يلاحظ تأثيرات على الـ mice بعد 28 ساعه تغذيه، لا يثبط انزيم ceramide synthase، يوجد طبيعيا فى كميات صغيره. النظير NCM – HFB1 يتكون كنتيجة التحلل القلوى.

*** FB1-starch or FB1-protein conjugates:**
- مجهول ولكن FB1 متاح حيوياً بقوه إذا تحطمت الارتباطات فى الأمعاء.
- يرتبط FB1 مع نموذج نشا أو بروتينات عند تسخينها، وجود هذه المركبات فى الغذاء ليس دليلاً ولكن هذا يفسر أن الـ hidden fumonisins تنفرد كصور محلله مائياً من الـ cornflakes بواسطة التحلل المائى فى وجود قلوى.

*** FP1 :**
لم يلاحظ تأثير فى الـ mice(28 ساعه تغذيه)، تتحول مجموعة الأمين فى FB1 بواسطة *Fusarium spp.* إلى 2-hydroxypyridine تحت ظروف غير هوائيه.

ثانيا : تأثير طرق التصنيع على تواجد الـ fumonisin :

١- تأثير الطحين Milling :

الطحين الجاف: يوجد الـ fumonisin فى كل من أجنة الذرة، الردة، والذره الناعم بينما الرقائق الخشنة من الذرة تحتوى مستويات منخفضة من الـ fumonisin. أما فى حالة **الطحين الرطب** فوجد أن النشا لايحتوى بقايا FBx قابله للاكتشاف بينما مستويات الـ fumonisin فى الأجزاء الأخرى كانت بالترتيب التالى :

Gluten > fiber > germ

٢- التنظيف cleaning:

الغربلة باستخدام غربال (3mm) لغربلة الناعم (< 3mm) من حبوب الذرة الكلية (0.53-1.89 mg total fumonisins/kg) قللت المستوى بمعدل 26-69%.

١- التسخين Heating:

الغليان (100˚C، 30 دقيقه) لمادة البيئة الخاصة بالفطر *Fusarium verticillioids* لم تقلل تركيز FB1.

٤ - البسترة Pasteurization:

بستره السنابل البنيه المحتويه 50 ng /ml FB1 and FB2 عند درجه حرارة 62˚C لمده 30 دقيقه لم تؤثر معنوياً على خفض مستويات الـ fumonisin، ولكن التحطم يبدأ عند ارتفاع درجات الحرارة ويحدث التحطم الحرارى.

الباب الثاني عشر
التشريعات الخاصة
بالسموم الفطرية على
مستوى العالم
Mycotoxins Legislation Worldwide

الباب الثاني عشر

التشريعات الخاصة بالسموم الفطرية على مستوى العالم
Mycotoxins Legislation Worldwide

القطاع الرئيسى فيما يتعلق بتشريعات السموم الفطرية فى الاتحاد الأوربى هو لجنه التنظيم Commission Regulation (EC) No. 1981 (2006) المعدلة. وضعت قواعد خاصة بالنسبة للسموم الفطرية وملوثات أخرى وتشمل وضع حدود قصوى خاصة specific maximum limits للمواد الغذائية منفردة. السموم الفطرية التى يوجد لها حدود قصوى خاصه مثل:

Aflatoxins, ochratoxin A, patulin and the *Fusarium* toxins including deoxynivalenol, zearalenone and fumonisins.

تطبيق هذه النظم على كل العاملين فى مجال الغذاء والتى تشمل على سبيل المثال الاستيراد، الإنتاج، التصنيع، التخزين، التوزيع وبيع المواد الغذائية.

وكذلك تم وضع قواعد لطرق أخذ العينات والتحليل للتحكم فى الحد الأقصى للسموم الفطرية وهذه النظم تؤكد على التجانس والثبات بواسطة أعضاء الاتحاد الأوربى.

من المعروف أن تلوث الغذاء هو ماده لا تضاف عمداً على الغذاء ولكنها تكون موجودة فى هذا الطعام كنتيجة لعمليات التصنيع، التجهيز، المعاملات، التعبئة، النقل أو تداول الطعام أو كنتيجة للتلوث البيئى. كثير من السموم الفطرية تنتج فى المواد الغذائية مثل المكسرات والفاكهة المجففة كأمثلة للتلوث الطبيعى.

على أى الأحوال فإن إطار التشريعات لأى دوله ينص على أن أى طعام يحتوى تلوثا بكميه غير مقبولة من وجهة نظر الصحة العامة

وخاصة عند المستوى السام لا يمكن تسويقه فى هذه الدولة. ويجب حفظ مستوى التلوث منخفض بدرجة معقولة بواسطة التدريبات الجيدة. ولقد تم إقرار تنظيمات وقواعد فى معظم الدول للتحكم فى تلوث المواد الغذائية لحماية صحة الإنسان وتشمل الحدود القصوى الخاصة لمختلف الملوثات فى الأطعمة المختلفة بالإشارة إلى طريقة أخذا لعينات وكفاءة التحليل. ولقد وضعت تشريعات السموم الفطرية فى الدول المختلفة لكى تحدد الحد الأقصى لها فى المواد الغذائية المختلفة.

يوجد عوامل مختلفة علميه واجتماعيه اقتصاديه قد تؤثر على تقدير الحدود القصوى والتنظيم هذه العوامل مثل:

١- وجود بيانات عن السمية toxicological data.
٢- وجود بيانات عن تواجد السموم الفطرية فى السلع المختلفة.
٣- وجود معلومات عن مدى توزيع تركيزات السموم الفطرية داخل المجموع.
٤- وجود طرق للتحليل.
٥- التشريع فى الدول الذى من خلاله يتم التواصل التجارى.
٦- الحاجة الى مخزون طعام كافى.

العوامل الأول والثانى تعطى معلومات ضرورية عن تقدير الضرر وتقدير التعرض للمادة لتحديد الخطر.

أولا: **أفلاتوكسين: Aflatoxins**

تشمل (B1,B2,G1,G2) AF1 and total aflatoxins. الحدود القصوى maximum limits للأفلاتوكسين فى المواد الغذائيه هى الأكثر شيوعاً عن السموم الفطريه الأخرى على مستوى العالم. يمكن التحكم فى الحدود الخاصه بالأفلاتوكسين بواسطه مجموع القيمه للأفلاتوكسينات B1,B2,G1,G2 بالاضافه الى أو B1.

فى الاتحاد الأوربى European Union (EU) تم وضع الحد الاقصى للأفلاتوكسينات الكليهِ أى أفلاتوكسين B1 بالاضافه إلى / أو أفلاتوكسين M1 لجميع المواد الغذائيه المختلفه وتم إقراره فى :

Commission Regulation (EC) No. 188 (2006)
المعدله لوضع المستويات القصوى للمولوثات المختلفه فى المواد الغذائيه ولقد تم إقرار تعديلات مباشره بواسطة EC(2006) ليكون قابلا للتطبيق فى 27 ولايه من الاتحاد الأوربى.

على أى الأحوال وضعت تنظيمات إضافية فى تشريعات كل دوله عضواً فى الاتحاد الأوربى فمثلا دول مثل النمسا، ألمانيا، دينمارك، فيليندا، أسبانيا، السويد وضعت حدوداً إضافيه خاصة بها داخلياً تشمل الحدود القصوى الأفلاتوكسين B1 مع أو مجموع الأفلاتكوسينات الكليه لكل المواد الغذائيه التى ليس لها حدود خاصه معتمده من إلـ Commission Regulation وهذه الحدود تتراوح من 1µg/kg فى النمسا إلى 5µg/kg فى أسبانيا لأفلاتوكسين B1، ومن 4µg/kg فى دينمارك، ألمانيا إلى 10µg/kg فى فرنسا للأفلاتوكسينات الكلية.

بعض الدول الأخرى مثل تركيا، البوسنة، سويسرا تأثرت بتنظيمات الاتحاد الأوربى وتتجه بأن يكون لها تشريعات عامه شامله للتحكم فى الأفلاتوكسين.

جدول (9) حدود الأفلاتوكسين الكلية فى بعض الدول

الدوله	المواد الغذائيه	Total aflatoxins (µg/kg)
- استراليا، نيوزيلندا	فول السودانى، أشجار المكسرات	15
- كندا	المكسرات ومنتجاتها	15
- مجموعة دول الخليج (السعودية، الإمارات العربية، الكويت، البحرين، عمان اليمن، قطر)	فول السودانى – اللوز- المكسرات البرازيليه – البندق – الفستق ، ومنتجاتها المصنعة	15
- نيجيريا	اللوز- البندق فى الأغذية الجاهزه	10
- الهند	القمح ، الذره، الذره الرفيعه، حبوب المحاصيل الأخرى	30
الولايات المتحدة الأمريكية	المكسرات البرازيليه، فول السودانى ومنتجاته منتجات الفستق	20
جنوب أفريقيا	الفول السودانى ومنتجاته	15

ومن هنا فإن دولا أخرى مثل الهند والولايات المتحدة الأمريكية أقرت الحد الأقصى العام للأفلاتوكسين فى الطعام والتى ليس لها حدود قصوى خاصة فى حدود 30µg/kg فى الهند، 20µg/kg فى الولايات المتحدة الأمريكية، وفى جنوب أفريقيا تم إقرار الحد الأقصى العام للأفلاتوكسين بأنه 10µg/kg بالإضافة إلى 5µg/kg لأفلاتوكسين β1.

جدول (10) : حدود أفلاتوكسين M1

الدولة	المواد الغذائيه	Aflatoxin M1 µg/kg
- الاتحاد الاروبى البوسنة والهرسك – تركيا	اللبن الخام – اللبن المعامل حرارياً- اللبن المعد لصناعة المنتجات المعتمدة علي اللبن	0.05
	لبن الأطفال المجهز وما ينتج منه	0.025 (منتجات جاهزة للاستعمال)
	أطعمه لبنيه للأغراض الطبية وبوجه خاص للأطفال	0.025 (منتجات جاهزة للاستعمال)
- الصين	اللبن ومنتجاته لمسحوق اللبن محسوباً على أساس اللبن الطازج	0. 5
	الطعام المجهز للأطفال الأكبر سناً (لبن بروتين اللبن)	0.5 محسوباً على أساس مسحوق اللبن الجاف
	الطعام المجهز للأغراض الطبيعية بوجه خاص للأطفال	0.5 محسوباً على أساس مسحوق اللبن الجاف
- مجموعة دول الخليج العربى -والهند – كينيا والولايات المتحدة الأمريكية	اللبن	0.5
- الأرجنتين	اللبن السائل المستعمل فى إنتاج منتجات اللبن واللبن المعاد تشكيله	0.5
	مسحوق اللبن	5.0
- المكسيك	اللبن المبستر واللبن منزوع المياه dehydrated milk	0.5
- جنوب أفريقيا	اللبن	0.05

كل أعضاء الاتحاد الأوربى فيما عدا ألمانيا عندهم حدود قصوى إضافية للـ AFM1. التشريع الالمانى الداخلى خصص حد أقصى إضافى للـ AFM1 فى الأغذية المناسبة للأطفال عند 0.01 µg/kg.

ثانياً : Ochratoxin A

لجنة التنظيم فى الاتحاد الأوربى EC (2006) أعلنت عن وضع الحدود القصوى للـ Ochratoxin A (OTA) فى المواد الغذائية مثل الحبوب غير المصنعه والمنتجات المشتقه منها والعنب المجفف، حبوب القهوة، القهوة الذائبة، النبيذ، البهارات والمنتجات الغذائية الخاصه بالأطفال وكان أقل حد أقصى تم وضعه فيما عدا المنتجات الخاصه بالأطفال هى 2µg/kg للنبيذ وعصير العنب بينما كان 80µg/kg لمستخلص liquorice (هو أحد النباتات تستخلص منه ماده تستعمل فى الأدويه أو كماده حلوه المذاق).

ولقد تم وضع حدود قصوى إضافيه للـ OTA خاصه بكل الدول الاعضاء فى الاتحاد الأوربى مثل دينمارك، المجر، إيطاليا، ألمانيا وذلك في تشريعاتهم الداخليه.

ثالثاً: Deoxynivalenol (DON)

أقرالاتحاد الأوربى الحد الأقصى للـ DON فى المنتجات مثل الحبوب غير المصنعه unprocessed coreals ومنتجات الحبوب مثل المكرونه والخبزما بين 200kg/kg للأطعمه المعتمده على الحبوب المصنعه processed cereal – based foods وطعام الاطفال بينما كان 1750 µg/kg للقمح والذره غير المصنعه.

جدول (11) : الحد الأقصى للـ DON فى بعض دول العالم

الدولة	المواد الغذائية	Deoxynivalenol µg/kg
- كندا	قمح طرى غير نظيف للاستعمال فى الأطعمة غير الرئيسية	2000
	قمح طرى نظيف يستعمل فى طعام الأطفال	1000
- الصين	الذرة، وجبات الذرة (رقائق وجبات الذرة الخشنة)	1000
	القمح، الشعير، حبوب الإفطار، دقيق القمح	1000
- الهند	القمح	1000
- اليابان	القمح	1000
- روسيا	القمح ، حبوب القمح، دقيق القمح، الشوفان منتجات المكرونه، الخبز، طعام بروتين من بذور الشعير	700
	حبوب الشعير دقيق الشعير ، الشوفان منتجات المكرونه	1000
	دقيق الحلويات	700
الولايات المتحدة الأمريكية	منتجات القمح الكاملة	1000

فى روسيا وضعت حدود خاصة إضافية للـ DON فى أنواع خاصة من المنتجات للأطفال وكذلك للمرأة الحامل والمرضعة.
أما فى أستراليا، نيوزيلندا ودول الخليج، كينيا وجنوب أفريقيا لا يوجد حدود خاصة بالـ DON فى المواد الغذائية.

رابعاً: Patulin

فى كثير من الأسواق مثل الصين، دول الخليج، الولايات المتحدة الأمريكية تم وضع الحد الأقصى maximum limit بصورة عامه لمنتجات التفاح مثل عصير التفاح ويبدو أن الحد الأقصى وهو 50 µg/kg عالمياً فى كل الدول.

جدول (12) الحد الأقصي لـ patulin

الدولة	المواد الغذائية	Patulin µg/kg
- الصين	منتجات الفاكهة محتويه التفاح	50
	عصير التفاح والخضروات	50
	المشروبات الكحولية وتشمل التفاح	50
- مجموعة دول الخليج العربي – كينيا ونيجيريا	عصير التفاح	50
- الهند	عصير التفاح و مواد العصير فى المشروبات الأخرى	50
- اليابان	عصير التفاح والطعام المعد من عصير التفاح كماده خام	50
- جنوب أفريقيا	عصير التفاح و مواد عصير التفاح فى المشروبات الأخرى	50
- الولايات المتحدة الأمريكية	عصير التفاح ومركزات ومنتجات عصير التفاح	50

وفى الاتحاد الأوربى تم وضع الحدود القصوى للـ patulin فى الفاكهة ومنتجاتها خاصة منتجات التفاح وهو الحد الأقصى العالمى 50 µg/kg الذى يطبق أيضاً على عصائر الفاكهة والمشروبات الكحولية، سيدر، وبعض المشروبات المتخمرة المشتقة من التفاح. على اى الأحوال يتم وضع حدوداً إضافية للمنتجات مثل منتجات التفاح الصلبة، وعصير التفاح وطعام الأطفال. ففى السويد

كان 50µg/kg وضع كمستوى محلى لمنتجات الفاكهة، وفى روسيا تم وضع حدود قصوى للـ patulin لكل منتجات التفاح والطماطم وبعض العصائر والمربات وكانت الحدود القصوى متوافقة مع الحد العام العالمى 50 µg/kg بجانب منتجات الأطفال والسيدات الحامل والمرضعات.

عموما لا توجد حدود قصوى للـ patulin فى المواد الغذائية فى أستراليا، نيوزيلندا، كندا والمكسيك.

خامسا : Fumonisins and Zearalenone

فى الاتحاد الأوربى تم وضع حدود قصوى للـ fumonisins and zearalenone فى المواد الغذائية أساسا فى الحبوب ومنتجات الغذاء المعتمدة على الحبوب.

كثير من الدول التى تأخذ تشريعات الاتحاد الأوربى كمرجع لها مثل تركي، البوسنة والهرسك، النرويج وسويسرا وضعت حدود قصوى مماثلة لـ fumonisins and zearalenone .

على الأحوال، فى معظم الأسواق العالمية لا توجد حدود قصوى خاصة للـ fumonisins مثل الصين، اليابان، الهند، دول الخليج العربى، كندا وكثير من دول أمريكا اللاتينية.

أما فى الولايات المتحدة الأمريكية فقد أقرت إدارة الأغذية والدواء استشارة إضافة بعض المواد المحتوية fumonisins.

جدول (13): الحد الأقصى الاستشارى للـ Fumonisin فى الولايات المتحدة الأمريكيه

المواد الغذائيه	Fumonisin (FB1+FB2+FB3) µg/kg
منتجات الذرة المكسور المطحون (رقائق جريش الذرة، دقيق الذرة الذى يحتوى دهنى اقل من 2.25% على أساس الوزن الجاف	2000
منتجات الذرة الكلى أو المطحون (رقائق جريش الذرة أو البرغل، جريش الذرة، دقيق الذرة بمحتوى دهنى اقل من 2.25% على أساس الوزن الجاف	4000
ردة الذرة المطحون الجاف	4000
الذرة النظيف لإنتاج masa (أحد الفطائر من الذره)	4000
الذرة النظيف لإنتاج الفشار	3000

من ناحية أخرى تم وضع الحد الأقصى للـ zearalenone فى التشريعات الداخلية للبرازيل، الصين، روسيا. وعلى أى الأحوال كثير من دول العالم مثل الولايات المتحدة الأمريكية، اليابان، أستراليا، نيوزيلندا ودول الخليج العربى ودول أفريقيا لم تقر حد أقصى خاص بالـ zearalenone. وبصورة مثيره للاهتمام فإن الحد الأقصى لـ zearalenone فى شيلى فى جميع المواد الغذائية 200mg/kg.

جدول (14) : حدود T-2 toxin المسموح بها فى روسيا

المواد الغذائية	T2 – toxin µg/kg
حبوب الطعام مثل القمح،الذرة،الأرز،الحنطة السوداء	100
حبوب ورقائق الشوفان	100
دقيق القمح للمكرونة ، الشعير ، الذرة	100
الطعام المعتمد على الحبوب للأطفال حتى عمر 3 سنوات	NP (غير مسموح) 50 (LOD)Limit of Detection حد الاكتشاف
منتجات اللبن والحبوب للسيدات الحامل والمرضعات	NP 50 (LOD)
منتجات الخبز ، الدقيق للأطفال حتى عمر 4-3 سنوات	NP 50 (LOD)
اللحوم والخضروات المعلبة التى تحتوى حبوب للأطفال حتى عمر 3 سنوات	NP 50 (LOD)
الأسماك والخضروات المعلبة التي تحتوى حبوب للأطفال حتى عمر 3 سنوات	NP 50 (LOD)
منتجات سمكية تحتوى حبوب للأطفال حتى 14-3 سنه	NP 50 (LOD)
منتجات منخفضة البروتين (النشا – المكرونة)	NP 50 (LOD)

LOD= Limit of Detection
NP= Not Permitted

على وجه العموم فإن كثيراً من الدول يوجد بها تشريعات داخل الدولة تضع حدوداً قصوى للأنواع المختلفة من السموم الفطرية فى مختلف المواد الغذائية. من ناحية أخرى طبقا لمنظمه (FAO,1997) يمكن تلخيص التشريعات العالمية للسموم الفطرية كما يلى

(جدول 15).

International Legislation on Mycotoxins (FAO,1997)

الدوله	نوع الغذاء	السموم الفطريه	الحد المسموح به
البرازيل	-فول السوداني (بالقشر - الخام - المحمص) عجينة فول السوداني -	Aflatoxins B1, B2, G1, G2	20μg/kg
	زبده الفول السوداني -الذرة (الحبوب الكلية – المكسورة المطحونة – الدقيق)	AFlatoxins B1, B2, G1, G2	20μg/kg
	-اللبن السائل	AFM1	0.5μg/L
	-البن الجاف (مسحوق اللبن) – علف الحيوان	AFM1	5μg/L
		AFB1, B2, M1, M2	20 μg/L
الأرجنتين	-طعام الأطفال	AFB1	Zero
	-فول السوداني	AFB1	5μg/kg
	الذرة ومنتجاتهم	B1, B2, G1, G2	20μg/kg
	-دقيق فول الصويا	AFB1	30μg/kg
	-اللبن السائل والمسحوق	AFM1	0.05μg/kg
	منتجات اللبن	AFM1	0.5μg/kg
أورجواى	-الطعام والبهارات	AFB1, B2, G1, G2	20 μg/kg
	-منتجات فول الصويا وفول السوداني البذور المجففه	AFB1, B2, G1, G2	30 μg/kg
	-حبوب الكوكا	AFB1, B2, G1, G2	10μg/kg
	-طعام الأطفال (المصنع)	AFB1, B2, G1, G2	[illegible]μg/kg
		AFB1, B2, G1, G2	
	-الذره والشعير		[illegible] μg/kg
	-اللبن ومنتجاته	AFM1	0.[illegible] μg/kg
	- عصير الفاكهه	Patulin	[illegible] μg/kg
	-الذره-الشعير، البطاطس – القهوه – الأرز	Ochratoxin A	[illegible] μg/kg
كندا	-المكسرات ومنتجاتها	AFB1, B2, G1, G2	15 μg/kg
	-القمح الناعم soft wheat	Deoxynivalenol	2000 μg/kg
	-الأعلاف	AFB1, B2, G1, G2	20 μg/kg
	-أعلاف الأبقار والدواجن	Deoxynivalenol, HT-2 toxin	5000 μg/kg
			100 μg/kg
	-أعلاف الحيوان اللبنية	Deoxynivalenol	25 μg/kg
شيلي	-الأعلاف	AFB1	20 μg/kg
		AFB1, B2, G1, G2	50 μg/kg

كولومبيا	- الطعام - الحبوب (الذرة الرفيعة) - البذور الزيتية - علف الأبقار - بذور السمسم - علف الدواجن	AFB1, B2, G1, G2 AFB1, B2, G1, G2 AFB1, B2, G1, G2 AFB1, B2, G1, G2 AFB1, B2, G1, G2 AFB1, B2, G1, G2	20µg/kg 30µg/kg 10µg/kg 50µg/kg 20µg/kg 20µg/kg
كوستاريكا	- الذرة للاستهلاك الانسانى - الذرة للاستهلاك الحيوانى	AFB1, B2, G1, G2 AFB1, B2, G1, G2	35 µg/kg 50 µg/kg
كوبا	- الطعام، الحبوب، فول السودانى	AFB1, B2, G1, G2	5 µg/kg
الولايات المتحدة الأمريكية	- الطعام - منتجات القمح الجاهزة للأكل - منتجات اللبن	AFB1, B2, G1, G2 Deoxynivalenol AFM1	20 µg/kg 1000 µg/kg 0.5 µg/kg
جواتيمالا	- الذرة-الردة- الأرز- الذرة الرفيعة- الفول السودانى – زبدة الفول السودانى	B1,B2,G1,G2	20 µg/kg
هندوراس	- كل أنواع الطعام - الذرة (السليمة والحبوب المطحونة) - طعام الأطفال - اللبن ومنتجات اللبن - الجبنه	B1,B2,G1,G2 AFB1 B1,B2,G1,G2 AFM1 AFM1 AFM1	1µg/kg 1 µg/kg 0.01 µg/kg 0.02 µg/kg 0.05 µg/kg 0.25 µg/kg
جاميكا	- الطعام والحبوب	B1,B2,G1,G2	20 µg/kg
المكسيك	- الدقيق - الحبوب للماشية - أعلاف الأبقار المنتجة للألبان وللدواجن	B1,B2,G1,G2 B1,B2,G1,G2 B1,B2,G1,G2	20 µg/kg 200 µg/kg Zero µg/kg
بنما	لا يوجد نظم محدده		
بيرو	- كل الطعام	B1,B2,G1,G2	10 µg/kg
جمهورية دومنيكان	- الذرة ومنتجاته – فول السودانى فول الصويا، الطماطم	B1,G1	Zero µg/kg

	ومنتجاتها -الذرة المستورد	B1,B2,G1,G2	20 µg/kg
فنزويلا	-دقيق الأرز -الأعلاف	B1,B2,G1,G2 B1,B2,G1,G2	5 µg/kg 20 µg/kg
الاتحاد الاوربى	-فول السودانى – المكسرات فى الفواكه عموما والمجففه للاستخدام المباشر	Aflatoxin B1 Total(B1+B2+G1+G2)	2 µg/kg 4 µg/kg
	-فول السودانى مثل عمليات الاختيار أو أى عمليات فيزيائيه أخرى	B1 Total(B1,B2,G1,G2)	8 µg/kg 15 µg/kg
	-المكسرات والفواكه المجففه المنتقاه أو تعرضت العمليات فيزيائيه	B1 Total(B1,B2,G1,G2)	5 µg/kg 10 µg/kg
	-الحبوب cereals والمنتجات المصنعه الأخرى للأستخدام المباشر أو كمواد خام للطعام	B1 Total(B1,B2,G1,G2)	2 µg/kg 4 µg/kg
	-اللبن الخام أو المنتجات اللبن أو اللبن العامل حرارياً.	AFM1	0.05µg/kg
	-البهارات	B1 Total(B1,B2,G1,G2)	5 µg/kg 10 µg/kg
	-Raw cereals	Ochratoxin A	5 µg/kg
	-منتجات الـ cereals للاستخدام المباشر بواسطة الإنسان	Ochratoxin A	3 µg/kg
	-الفاكهة المجففة	Ochratoxin A	10 µg/kg
	-طعام الأطفال	Patulin	10 µg/kg
	-المواد الخام للطعام	AFB1	50 µg/kg
	-منتجات الفول السوداني، جوز الهند المجفف، بلح النخيل بذور القطن، الذرة	AFB1	20 µg/kg
	-المواد الخام للماشية	AFB1	50 µg/kg

	التسمين، والأغنام، الأبقار ماعدا الحيوانات الصغيرة -العجول الصغيرة والحملان -مكملات مواد الطعام الخام. -مكملات مواد الطعام الخام للطيور -مكملات مواد الطعام الخام للماشية، والأغنام، ماعدا الحيوانات المرضعة والعجول الصغيرة والحملان وصغار الماعز -المواد الخام فى منتجات الفول السودانى والنخيل القطن، الذرة -الطعام للأطفال والصغار -اللبن -الطعام للأطفال	 AFB1 AFB1 AFB1 AFB1 AFB1 B1,B2,G1,G2 AFM1 AFM1	 10 µg/kg 5 µg/kg 30 µg/kg 50 µg/kg 200 µg/kg 0.05 µg/kg 0.05µg/kg 0.01µg/kg
بلجيكا	-الفول السودانى -اللبن	AFB1 AFM1	5 µg/kg 0.05 µg/kg
دينمارك	-الفول السودانى ونواتجه -التين الجاف والمكسرات البرازيلية -cereals ومنتجاتها	AFB1 Total(B1,B2,G1,G2) AFB1 Total(B1,B2,G1,G2) Ochratoxin A	2 µg/kg 4 µg/kg 2 µg/kg 4 µg/kg 5 µg/kg
اسبانيا	-كل الأطعمة	Total(B1,B2,G1,G2) AFB1	10 µg/kg 5 µg/kg
فرنسا	-كل الأطعمة -فول السودانى ، الفستق، اللوز، طعام الأطفال -نخالة القمح -الزيوت النباتية، cereals -منتجات العصير -الزيوت النباتية،	AFB1 AFB1 AFB1 AFB1 Patulin Zearalonone	10 µg/kg 10 µg/kg 10 µg/kg 5 µg/kg 50 µg/kg 200 µg/kg

	cereals		
	cereals-	Ochratoxin A	5 µg/kg
	-اللبن، مسحوق اللبن	AFM1	0.05 µg/kg
	-اللبن، مسحوق اللبن (للأطفال أقل من 3 سنوات)	AFM1	0.03 µg/kg
اليونان	-فول السوداني ، البندق، الكاجو،	Total(B1,B2,G1,G2)	10 µg/kg
	الفستق، اللوز، بذور القرعيات، المشمش الجاف، التين	AFB1	5 µg/kg
	-القهوة، عصير	Ochratoxin A	20 µg/kg
	التفاح ، منتجات التفاح	Patulin	50 µg/kg
لوكسمبرج	-فول السوداني ومنتجاته	AFB1	5 µg/kg
النرويج	-كل الأطعمة	Total(B1,B2,G1,G2)	5 µg/kg
	-عصير التفاح المركز	Patulin	50 µg/kg
البرتغال	-كل الاطعمه	AFB1	20 µg/kg
	-فول السوداني	AFB1	25 µg/kg
	-طعام الأطفال infants	AFB1	5 µg/kg
السويد	-كل الأطعمة	Total(B1,B2,G1,G2)	5 µg/kg
	-التوت، الفاكهة، العصائر	Patulin	50 µg/kg
	-منتجات اللبن السائل	AFM1	0.05 µg/kg
	-مكونات الغذاء الخام	AFB1	50 µg/kg
	-مكونات الغذاء الخام لماشية اللبن	AFM1 AFB1	10 µg/kg
	-الحبوب والأعلاف كمكونات للغذاء الخام لماشية اللبن	AFB1	1 µg/kg
	-المواد الغذائية الخام (ماعدا مخلوط الأعلاف) لماشية اللبن.	AFB1	3 µg/kg
	-المواد الخام الكاملة.	AFB1	10 µg/kg
	-المواد الغذائية الخام كاملة لماشية التسمين، الأغنام ماعدا ماشيه اللبن والحيوانات الصغيرة	AFB1	50 µg/kg
	-المواد الغذائية الخام كاملة لماشية اللبن	AFB1	1.5 µg/kg

	والأعلاف -المواد الغذائية الخام كاملة للطيور	Ochratoxin A	200 µg/kg
البوسنه والهرسك	-القمح، الذرة، الأرز cereals -اللوبيا والفاصوليا	AFB1,AFG1 AFB1,AFG1	1 µg/kg 5 µg/kg
فنلندا	-كل الطعام -كل الطعام	Total(B1,B2,G1,G2) Patulin	5 µg/kg 50 µg/kg
المجر	-كل الطعام -فول السوداني -الأطعمة المحفوظة -الفول السوداني	AFB1 AFB1 كل السموم الفطرية Total(B1,B2,G1,G2)	5 µg/kg 30 µg/kg zero µg/kg 5 µg/kg
مقدونيا	-القمح ، الذرة، الأرز -اللوبيا، الفاصوليا	AFB1,AFG1 AFB1,AFG1	1 µg/kg 5 µg/kg
بولندا	-كل الطعام -مكونات الطعام الخام للماشية والأغنام والماعز	AFB1 AFB1	Zero µg/kg 50 µg/kg
جمهورية التشيك	-كل الطعام -طعام الأطفال infantsالـ -كل الطعام -طعام الرضع infant foods -اللبن -أى نواتج اخرى -الطعام للأطفال والرضع -طعام الرضع المعتمد على اللبن	AFB1 B2,G1,G2 AFB1 B2,G1,G2 Patulin Ochratoxin A Patulin Ochratoxin A AFM1 AFM1 AFM1 AFM1 AFB1 B2,G1,G2	5 µg/kg 10 µg/kg 1 µg/kg 2 µg/kg 50 µg/kg 20 µg/kg 20-30 µg/kg 1- 5 µg/kg 0.5 µg/kg 5 µg/kg 1 µg/kg 0.1 µg/kg 0.1 µg/kg 0.2 µg/kg
رومانيا	-كل الطعام -اللبن ومنتجاته -المواد الخام للطعام	AFB1 Patulin Ochratoxin A Zearalenone AFM1 Patulin Ochratoxin A Deoxynivalenol	Zero µg/kg 50 µg/kg 5 µg/kg 30 µg/kg Zero µg/kg 30 µg/kg 5 µg/kg 1000 µg/kg
صربيا	-القمح، الذرة، الأرز	AFB1,AFG1	1 µg/kg

	والـcereals -الفاصوليا واللوبيا	AFB1,AFG1	5 µg/kg
سويسرا	-كل الطعام (فيما عدا الذرة الـ cereals, herbs) -الذرة، cereals -الأعشاب herbs -طعام الأطفال الرضع Cereals- -الذرة ومنتجاته -عصير الفاكهة -اللبن ومنتجاته -مصل اللبن ومنتجاته -الجبنه -الزبده وطعام الرضع	AFB1 B2,G1,G2 AFB1 B2,G1,G2 AFB1 B2,G1,G2 B1,B2,G1,G2 Ochratoxin A Fumonisin B1+B2 Patalin AFM1 AFM1 AFM1 AFM1	1 µg/kg 5 µg/kg 2 µg/kg 5 µg/kg 5 µg/kg 5 µg/kg 0.01 µg/kg 2 µg/kg 1000 µg/kg 50 µg/kg 0.05 µg/kg 0.025 µg/kg 0.25 µg/kg 0.02 µg/kg
جنوب افريقيا	-كل الاطعمه	B1 Total (B1,B2,G1,G2)	5µg/kg 10 µg/kg
أستراليا	-كل الاطعمه -زبدة فو السوداني، المكسرات عموماً	Total (B1,B2,G1,G2) Total (B1,B2,G1,G2)	5µg/kg 15 µg/kg
الصين	-الأرز، الزيوت الصالحة للأكل -القمح، الشعير، الشوفان، اللوبيا،وحبوب أخرى والطعام المتخمر -Cereals، البقوليات، الفواكه المجففه، السمسم، والطعام الناتج من هذه المنتجات، بذور الخشخاش ، البذور المستعملة فى منتجات المخابز والحلويات. -اللبن ومنتجاته	AFB1 AFB1 B1,B2,G1,G2 All aflatoxins	10 µg/kg 20 µg/kg 5µg/kg 0.5µg/kg
ساحل العاج	-مكونات الأطعمه الخام -الطعام الخام كاملا -الطعام الخام كاملا	B1,B2,G1,G2 B1,B2,G1,G2 B1,B2,G1,G2	100 µg/kg 10 µg/kg 75 µg/kg

	لماشية اللحم، الأغنام والماعز -الطعام الخام كاملا لأبقار اللبن	B1,B2,G1,G2	50 µg/kg
مصر	-فول السوداني ومنتجاته، زيت البذور ومنتجاته	B1,B2,G1,G2	10 µg/kg
	-Cereals ومنتجاته	AFB1	5 µg/kg
	-الذره	B1,B2,G1,G2	20 µg/kg
		AFB1	10 µg/kg
	-النشا ونواتجه	B1,B2,G1,G2	zero µg/kg
	-اللبن ومنتجاته	G1,G2,M1,M2	zero µg/kg
	-الأعلاف للحيوانات والطيور	B1,B2,G1,G2	20 µg/kg
		AFB1	10 µg/kg
الفلبين	-المكسرات ومنتجتها	B1,B2,G1,G2	20 µg/kg
	-الطعام الخام لمواشي اللحم	B1,B2,G1,G2	20 µg/kg
هونج كونج	-الطعام بوجه عام	B1,B2,G1,G2,M1,M2,AFP1 , Aflatoxicol	15 µg/kg
	-الفول السوداني ومنتجاته	B1,B2,G1,G2,M1,M2,AFP1 , Aflatoxicol	20 µg/kg
الهند	-كل الأطعمة	AFB1	30 µg/kg
	-زهرة الفول السوداني (للتصدير)	AFB1	120 µg/kg
أند ونسيا	-Cereals، البقوليات ومنتجاتها	Ochratoxin A	50µg/kg
	-حبوب الطعام الخام	AFB1	20 µg/kg
		Ochratoxin A	300 µg/kg
		T-2 toxin	100 µg/kg
		Diacetoxyscirpenol	1000 µg/kg
اليابان	-الأطعمة	AFB1	10 µg/kg
	-المواد الخام	AB1	1000 µg/kg
الأردن	-اللوز، cereals، الذرة، فول السوداني، الفستق، الصنوبر، الأرز	B1,B2,G1,G2	30 µg/kg
		AFB1	15 µg/kg
مالاوي	-فول السوداني (للتصدير)	AFB1	5 µg/kg
ماليزيا	-كل الأطعمة	B1,B2,G1,G2	35 µg/kg
نيجيريا	-كل الأطعمة	AFB1	5 µg/kg
	-طعام الأطفال	AFB1	Zero µg/kg
	infants		1 µg/kg
	-اللبن السائل	AFM1	50 µg/kg

	-المواد الخام للطعام	AFB1	
نيوزيلاند	-كل الأطعمة -زبدة وحبوب الفول السوداني، المكسرات	B1,B2,G1,G2 B1,B2,G1,G2	5 µg/kg 15 µg/kg
عمان	-منتجات الفول السودانى -منتجات الفول السوداني كمواد خام	AFB1 AFB1	50 µg/kg 300 µg/kg
سريلانكا	-الأطعمة عموماً -طعام الأطفال (حتى عمر ٣ سنوات)	All aflatoxins All aflatoxins	30 µg/kg 1 µg/kg
زيمبابوي	-دقيق الأرز -فول السودانى، الذرة	AFB1 AFG1 AFB1 G1	5µg/kg 4 µg/kg 5µg/kg 4 µg/kg

الباب الثالث عشر
أمثلة لتصور المرض الفطري
Fungal Disease Fact Sheet

الباب الثالث عشر

Fungal Disease Fact Sheet أمثلة لتصور المرض الفطرى

Mycotoxic fungi فطريات منتجة للسموم الفطرية I.

أولاً: أسم المرض: مرض عفن كيزان الذره وسنابل القمح المصابة بالاسبرجلس:

Aspergillus Ear Rat

أساساً الذرة ومنتجاته، فول السودانى ومنتجاته. وثانوياً البيكان (أحد أنواع شجر الجوز الأمريكي)، الجوز Walnuts، اللوز Almonds، مطحون بذرة القطن Cottonseed meal، الذرة الرفيعة، الشعير، الشوفان	الحبوب المصابة **Grain affected**	
أفلاتوكسين **Aflatoxin**	السم الفطري **Mycotoxin**	
Aspergillus flavus, A. parasiticus, A. nomius, A. niger, A. glaucus.	المسبب المرضى **Pathogen**	**Photo 1.** ***Aspergillus sp.*** **growing on corn kernel**
عفن أخضر إلى أصفر على كيزان الذرة فى الحقل أو على الحبوب فى المخزن	الأعراض **Symptoms**	
الرطوبة moisture ما قبل الحصاد أكبر من ١٨٪ ، درجة الحرارة ١٢-٤٠°م (٥٤-١٠٤ فهر نهيت) الرطوبة المتكثفة Humidity أكبر من ٨٥٪، جفاف شديد severe drought stress ، نقص النيتروجين، ضرر حشري كبير ، يجب تجفيف الحبوب المخزونة وتثبيتها حتى أقل من ١٤٪ رطوبة.	الظروف **Conditions**	
تنتقل خلال المياه عن طريق المطر، مياه الرش الملوثة، عن طريق الهواء وأيضا من خلال التلف بسبب الحشرات أو الطيور	انتشار الجراثيم أو المادة المسببة للمرض **Inoculums Dispersal**	
زيادة الأمطار على أو بالقرب من سطح التربة على حطام العائل النباتى التالف.	بقاء الجراثيم **Inoculums Survival**	**Photo 2.** ***A. flavus*** **on insect damaged ear of corn**
نقص الناتج ونوعية الحبوب	التأثير على المحصول **Effect on Crop**	

تقليل الظروف القاسية على المحصول من الجفاف والضرر الحشرى ، الحصاد المبكر مع خفض مستوى رطوبة التخزين حتى أقل من ١٥٪	الإدارة Management	
٢٠ جزء فى البليون (20ppb) لمنتجات الحبوب والعلف، 0.5ppb للألبان. الحدود الموصى لها فى الأعلاف: 20ppb لأبقار اللبن، 100ppb لأبقار التربية والدجاج البالغ النمو.	التأثير طبقا لمستوى إدارة الأغذية والدواء Food and Dry Administration (FDA) Action level	
لا يوجد حيوان مقاوم للتأثيرات السامة الحادة للأفلاتوكسين طبقاً للـ FDA	التأثير على الدواب Livestock Affected	
تلف الكبد، نقص فى كفاءة التوالد، نقص فى إنتاج اللبن أو البيض موت الأجنة، خلل فى المواليد	الاعراض على الدواب Livestock Symptoms	**Photo 3. Ear of corn infected with *A. flavus*.**
يشعر المريض بحمى، شعور باليرقان **rapid progressive jaundice** ، استسقاء **edema**فى الأطراف، آلام وشعور بالقئ ، انتفاخ الكبد. الفحص الهستولوجى للإنسان أظهر تلف فى القناه الصفراوية وتليف فى الكبد ونزيف فى المعدة والأمعاء.	الأعراض على الإنسان Human Symptoms	

ثانياً أسم المرض: إرجوت فطرى يصيب الأرز وغيره من الحبوب يحل محل البذره وتصبح سوداء :Ergot

القمح ، الشعير ، Rye،الشوفان البرى والمنزرع	الحبوب المتأثرة Grain Affected	Photo 4. Ergot sclerotia
Ergot Alkaloids - Ergotamine, Ergotpeptide pyrroloidine and Lysergic Acid Alkaloids	السموم الفطرية Mycotoxins	
Claviceps purpurea, Claviceps paspalli and Claviceps fusiformis	المسبب المرضى Pathogen	
يتكون جسم صلب sclerotia يشبه القرن hornlike بلون أسود - قرنفلي ويسمى ergot bod-ies والذي يحل محل بذرة أو أكثر في السنبلة ويكون أكبر ١٠ مرات عن البذور العادية. وتنتشر زهرات صغيرة سكريه بدرجة بسيطة فى صورة قطرات صفراء لزجه.	الأعراض Symptoms	Photo 5. Wheat head with ergots
يفضل مرض Ergot ظروف الرطوبة والطقس البارد طوال فترات التزهير ويحدث الإنبات أثناء الربيع وبدايات الصيف.	الظروف Conditions	
الانتقال خلال الهواء والأمطار المتناثرة والحشرات	انتشار الجراثيم أو المادة المسببة للمرض Inoculums Dispersal	
تظل الأجسام الصلبة Sclerotia حيوية قابلة للنمو لمدة عام تقريباً في التربة ولمدة أطول للحبوب في المخزن	بقاء الجراثيم Inoculums Survival	Photo 6. Barley head with honeydew and ergots (APS)
يقلل الناتج	التأثير على المحصول Effect on Crop	
حرث عميق للتربة، دورة المحاصيل، بذور نظيفة، استعمال آلات حديثه لتنظيف البذور، زراعة نظيفة، إزالة مصادر الـ ergot المحتملة بواسطة تنظيف الطرق والأراضي المحيطة قبل نضج النجيليات.	الإدارة Management	

لا يوجد	التأثير طبقا لمستوى إدارة الأغذية والدواء **Food and Dry Administration (FDA) Action level**	
الماشية والغنم	التأثير على الدواب **Livestock Affected**	
تقلص الأوعية الدموية فى الأطراف يتبعها غرغرينا جافه dry gan-grenes ، التهاب القناة الهضمية ، نزيف داخلي قئ ، إمساك أو إسهال وقد يحدث إجهاض فى الخنازير.	الأعراض على الدواب **Livestock Symptoms**	
وجد أنه تحدث إصابة بالغر غرينا ، تشنجات، اضطراب في المعدة والأمعاء والتي تؤدى إلى ٥٠٪ موت تقريباً	الأعراض على الأنسان **Human Symptoms**	**Photo 7. Ergot sclerotia (APS)**

ثالثاً: أسم المرض: عفن البذور بالفيوزاريم Fusarium Ear Rot

الذره	الحبوب المتأثرة Grain Affected
Fumonism	السموم الفطرية Mycotoxins
Fusarium moniliforme	المسبب المرضى Pathogen
كتله جراثيم بلون بني محمر إلى لون قرنفلي مصفر تبدأ في الكيزان أو على مجموعة من الحبوب منتشرة طوال الكيزان حتى تكون عفن قرنفلي زغبي أو فى صورة مسحوق	الأعراض Symptoms
تظهر الأعراض بعد الإصابة بالحشرات أو الطيور. يتطور المرض فى الطقس الجاف، الرطوبة العالية فى الحبوب أثناء الحصاد.	الظروف Conditions
تنتقل مع الهواء والتربة، الحشرات الطيور، ثاقبات الذرة corn borers، ديدان الأرضearworms، أدوات التخزين	انتشار الجراثيم أو المادة المسببة للمرض Inoculums Dispersal
زيادة الأمطار على أو بالقرب من سطح التربة على بقايا العائل النباتى التالف	بقاء الجراثيم Inoculums Survival
نقص القيمة الغذائية والتسويقية	التأثير على المحصول Effect on Crop
دورة محصوليه، حرث عميق للتربة، أصناف مقاومه، تقليل مستوى النيتروجين فى الحقل، استعمال أدوات نظيفة فى التخزين.	الإدارة Management
لا يوجد ولكن كمستويات استشارية هو 5ppm للخيول ، 10ppm للخنازير، 50ppm للمواشي.	التأثير طبقاً لمستوى إدارة الأغذية والدواء Food and Dry Administration (FDA) Action level

Photo 8. Corn infected by Fusarium sp.

Photo 9. Fusarium ear rot (APS)

الخيول، القرود، البغال mules، الخنازير، المواشى	التأثير على الدواب Livestock Affected	
فقدان الشهية	الأعراض على الدواب Livestock Symptoms	
أوضحت الأبحاث مشاكل صحية خطيرة (السرطان Cancer)	الأعراض على الإنسان Human Symptoms	

رابعاً: أسم المرض: عفن البذور بالجبريلا Gibberella Ear Rot

Corn الذرة	الحبوب المتأثرة Grain Affected	
Deoxynivalenol (Vomitoxin, DON), Zearalenone(Zea), T-2	السموم الفطرية Mycotoxins	
Fusarium graminarum, Fusarium roseum (sexual stage), *Gibberella zeae*	المسبب المرضى Pathogen	
ظهور عفن قرنفلي إلى احمر يبدأ عند قمة الكوز. وفى بعض الأحيان تظهر بقع بلون أسود ـ أزرق على القشرة والسيقان	الأعراض Symptoms	Photo 10. Gibberella ear rot
يكون تواجده بواسطة فترات بروده معتدلة خلال ثلاثة أسابيع بعد تكوين الشعيرات الحريرية. يلزم رطوبة أكبر من ٢٠٪ ودرجة حرارة ٢١-٢٩°م فى حاله DON، ودرجة حرارة أقل من ١٥°م فى حالة Zea, T-2 مع رطوبة عاليه.	الظروف Conditions	Photo 11. Kernels infected with *Gibberella zeae* (APS)
تنتقل مع الماء عن طريق المطر، مياه الرش الملوثة، وعن طريق الهواء وأيضاً من خلال التلف بسبب الحشرات والطيور.	انتشار الجراثيم أو المادة المسببة للمرض Inoculums Dispersal	
زيادة الأمطار على أو بالقرب من سطح التربة فى بقايا العائل مثل الأعشاب، الذرة، القمح، بقايا الزراعات.	بقاء الجراثيم Inoculums Survival	
نقص الناتج، ونوعية الحبوب	التأثير على المحصول Effect on Crop	
دورة المحاصيل، حرث عميق للتربة لدفن بقايا المحصول. التجفيف بعد الحصاد يصل إلى أقل من ١٨٪ رطوبة لكل الكيزان المخزنة، وأقل من ١٥٪ للذرة المغلف، هجين مقاوم	الإدارة Management	Photo 12. Gibberella ear rot (APS)

	التأثير طبقاً لمستوى إدارة الأغذية والدواء Food and Dry Administration (FDA) Action level	لا يوجد مستوى فعال ولكن FDA وضعت مستوى استشاري لمركب DON هو 1ppm لمنتجات القمح النهائية وكذلك المستويات التالية. 5ppm (أقل من ٢٠٪ فى الوجبة) للخنزير، 10ppm (أقل من ٥٠٪ فى الوجبة للماشية، الدجاج، 5ppm للحيوانات الأخرى (أقل من ٤٠٪)
	التأثير على الدواب Livestock Affected	للخنازير فى مدى 1ppm
	الأعراض على الدواب Livestock Symptoms	DON يسبب القئ، نقص فى الوزن، إسهال، نعاس، شحوب لون الجلد، التهابات جلديه، نزيف معوى، رفض الطعام. Zea يمنع الخصوبة، يسبب إجهاض ومشاكل النزيف الدموى.
	الأعراض على الإنسان Human Symptoms	لا يوجد

خامساً: اسم المرض : الجرب Scab (Head Blight)

القمح، الشعير	الحبوب المتأثرة Grain Affected	
Deoxynivalenol (Vomitoxin, DON), Zearalenone	السموم الفطرية Mycotoxins	Photo 13. Plants infected with scab (APS)
Fusarium graminarum, Gibberella zeae,	المسبب المرضى Pathogen	
تظهر سنابل القمح باهته مع إزالة لون الساق البني الأرجونى. تظهر كتل جراثيم بلون قرنفلى إلى برتقالى على الحبوب وعلى العصافه التى تحيط بقاعدة السنبلة Glyme فى الشعير: أول دليل للاصابه هو ظهور بقع ماء صغيره بنيه اللون إلى حد ما عند قاعدة العصافه التى تحيط بقاعدة السنبلة وكذلك على محور السنبلة ruches كما تنتشر البقع المشربة وإزالة اللون فى كل الاتجاهات.	الأعراض Symptoms	Photo 14. Spikes infected with scab (APS)
معظم الفترات: الرطوبة أكبر من ٢٠٪، درجه الحرارة ٢١ – ٣٠°م ، الرطوبة عاليه، وقد تحدث الاصابه عند درجه حرارة منخفضة ١٥°م إذا ظلت الرطوبة عاليه حتى ٧٢ ساعة.	الظروف Conditions	
تنتقل بواسطة الهواء خلال الفصول الممطرة فان الجراثيم قد تتساقط على محاصيل الحبوب الأخرى. وقد تنقل الجراثيم خلال التربة مع زيادة الأمطار من عائل محاصيل سابقه كذلك نتيجة تلف الحشرات والطيور	انتشار الجراثيم أو المادة المسببة للمرض	Photo 15. Wheat spiklet with orange spore mass
زيادة الأمطار على او بالقرب من سطح التربة فى متبقيات العائل مثل الأعشاب وبقايا القمح والشعير بعد الحصاد.	بقاء الجراثيم Inoculums Dispersal	
نقص الناتج ونوعية الحبوب. تؤثر بطريقه شديدة على نكهة ومواصفات الخبز	التأثير على المحصول Effect on Crop	

دورة محصوليه، حرث عميق للتربة لدفن متبقيات المحصول. التجفيف ما بعد الحصاد أقل من ١٥٪ رطوبة.	الاداره Management	
مستويات استشاريه من DON: 1ppm لمنتجات النهائية، 5ppm للخنازير (اقل من ٢٠٪ فى الوجبة) ، 5ppm لكل الحيوانات الأخرى (بمعدل أقل من ٤٠٪ فى الوجبة)، 10ppm للماشية والدواجن (بمعدل أقل من ٥٠٪ فى الوجبة)	التأثير طبقا لمستوى إدارة الأغذية والدواء **Food and Dry Administration (FDA) Action Level**	**Photo 16. Scab damage**
على الخنازير فى مدى 1ppm. الـ DON يمكن أيضا أن يسبب مشاكل فى الخيول وفى حيوانات التربية واللبن ولكن عند تركيزات عاليه. المواشي والدواجن أكثر تحملا لكل من **vomitoxin, zearalenone**	التأثير على الدواب **Livestock Affected**	
DON : يسبب قئ، يقلل الوزن المكتسب ، إسهال، يسبب الكسل والنعاس lethargy، شحوب لون الجلد، التهابات جلدية، نزيف معوي ورفض الطعام، ZEA: يسبب استطالة أو انتفاخ فى الأعضاء التناسلية للإناث ومشاكل خطيرة فى التوالد وعدم الخصوبة، نقص إنتاج اللبن فى المواشي	الأعراض على الدواب **Livestock Symptoms**	**Photo 17. Barley kernels infected with *G. Zeae* (APS)**
يحفز عضلة التشنج والقئ	الأعراض على الإنسان **Human Symptoms**	

II فطريات غير منتجه للسموم الفطريه Non mycotoxic fungi

اولاً: اسم المرض : القمة السوداء/ النقطه السوداء Black Tip / Black Point

القمح والشعير	الحبوب المتأثرة Grain Affected	Photo 18. Wheat kernels infected with black tip fungus (FGIS)
لا يوجد	السموم الفطرية Mycotoxins	
Cochliobolus sativus, *Helminthosporium* sativum (asexual stage)	المسبب المرضى Pathogen	Photo 19. Black tip damage (FGIS W-1.0)
ضرر بنى على القصبات فى الساق، الجذور و الساق الجوفاء ذو العقد culms فى البادرات. ويظهر أضرار بلون أسود - بنى على أوراق النباتات الناضجة.	الأعراض Symptoms	
البادرات: تدفئة وتجفيف مكان وضع البذور أما الناضجة تكون الرطوبة أكبر من ٩٠٪ تساقط الأمطار أثناء نضج البذرة أكبر من ٢٠٪	الظروف Conditions	
أساسا خلال تخزين بذور مصابه وممكن بزيادة الأمطار فى التربة	انتشار الجراثيم او المادة المسببة للمرض Inoculums Dispersal	Photo 20. Barley kernels severely infected with black.
أساسيات خلال تخزين بذور مصابه وممكن بزيادة الأمطار فى التربة	بقاء الجراثيم Inoculums Survival	
تكوين لون ورائحة غير مرغوبة، نقص فى الناتج والقدرة على الإنبات بسبب لفحه للبادرات ، عفن الجذور تكوين بثرات الشعير يصبح غير مقبولاً لعمل شراب الشعير	التأثير على المحصول Effect on Crop	

زراعة بذور غير مصابه مع الحرث العميق للتربة	الاداره Management	
لا يوجد	التأثير طبقا لمستوى إدارة الأغذية والدواء Food and Dry Administration (FDA) Action Level	
لا يوجد	التأثير على الدواب Livestock Affected	Photo 21. Wheat kernels severely infected with black tip (APS)
لا يوجد	الأعراض على الدواب Livestock Symptoms	
لا يوجد	الأعراض على الإنسان Human Symptoms	

ثانياً: اسم المرض عفن العين الأزرق Blue Eye Rot

الذرة	الحبوب المتأثرة Grain Affected	Photo 22. Blue-eye mold damage (FGIS C-1.0)
لا يوجد	السموم الفطرية Mycotoxin	
Penicillium oxalicum	المسبب المرضى Pathogen	Photo23. Purple plumule; not damage (FGIS C-1.1)
عفن أخضر غامق أو أخضر مزرق على وبين الحبوب فى العادة عند قمة الكيزان. تغيير لون الـ germ يؤدى إلى موت البذور	الأعراض Symptoms	
هو العفن المخازن ويزيد الاصابه به بواسطة فترات مبلله ممتدة خصوصا على قوالح الذرة المخزنة فى صناديق والرطوبة أكبر من ١٨٪ ودرجة الحرارة 5م. وقد تحدث الاصابه فى الحقل بواسطة تلف الحشرات والطيور	الظروف Conditions	Photo 24. Penicilium ear rot (APS)
ينتقل المرض بواسطة التربة والهواء ، الحشرات، الطيور الآلات ووسائل التخزين	انتشار الجراثيم أو المادة المسببة للمرض Inoculums Dispersal	
زيادة الأمطار على أو قرب سطح التربة فى متبقيات العائل وعن طريق الآلات ووسائل التخزين	بقاء الجراثيم Inoculums Survival	
نقص القيمة الغذائية والتسويقية	التأثير على المحصول Effect on Crop	

الحصاد المبكر، التهوية والتجفيف لخفض الرطوبة إلى أقل من ١٥٪	الاداره Management	
لا يوجد	التأثير طبقا لمستوى إدارة الأغذية والدواء Food and Dry Administration (FDA) Action Level	
لا يوجد	التأثير على الدواب Livestock Affected	
لا يوجد	الأعراض على الدواب Livestock Symptoms	
لا يوجد	الأعراض على الإنسان Human Symptoms	**Photo 25. Conidia and .conidiophores of *Penicillium sp***

ثالثا : اسم المرض مرض بطحه الحبوب Karnal Bunt

القمح، Rye	الحبوب المتأثرة Grain Affected	
لا يوجد	السموم الفطرية **Mycotoxin**	Photo 26. Wheat infected with karnal bunt
Tilletia indica	المسبب المرضى **Pathogen**	
ظهور جراثيم ذات لون بني غامق على عدد قليل من البذور لكل سنبله يمتد بطول الجزء المتجعد وأحيانا يحيط السنبلة كليه والجراثيم تسبب رائحة مثل رائحة السمك للحبوب	الأعراض **Symptoms**	
يلزم ظروف رطبه لإنبات الجراثيم ، الري العميق وسقوط الأمطار يتبعها برودة عادية لمدة ٣- ٤ أيام ، طقس رطب تكون لازمة قبل نفاذية الجراثيم	الظروف **Conditions**	Photo 27. Seed infected with kernel bunt (APS)
تنقل أساساً مع الهواء أثناء الحصاد عند كسر الجزء الحامل للبطحة كذلك من خلال استعمال آلات ملوثه.	انتشار الجراثيم أو المادة المسببة للمرض **Inoculums Dispersal**	
الجراثيم فى التربة مع زيادة الأمطار ثم تنبت عند أو قرب سطح التربة فى وجود الظروف الملائمة ويمكن للجراثيم أن تبقى حيوية فى التربة لمده ٥ سنوات.	بقاء الجراثيم **Inoculums Survival**	Photo 28. Teliospore of T. indica (APS)

نقص ناتج ونوعية المحصول الدقيق المصنوع من الحبوب المصابة بالبطحة يتغير طبيعة بطعم ومذاق غير مقبول	التأثير على المحصول **Effect on Crop**	
معاملة البذور كيميائيا لتثبيط الجراثيم المنقولة بالبذور وبعض المبيدات الفطرية تطبق عند تكوين السنابل للوقاية ضد الاصابه	الاداره Management	
لا يوجد	التأثير طبقاً لمستوى إدارة الأغذية والدواء Food and Dry Administration (FDA) Action level	Photo 29. Infection begins at the em-breyo and progresses along the crease. (APHIS)
لا يوجد	التأثير على الدواب **Livestock Affected**	
لا يوجد	الأعراض على الدواب **Livestock Symptoms**	
لا توجد أعراض ولكن القمح المحتوى أكبر من ٣٪ حبوب مصابه بالبطحة يعتبر غير مناسب لاستهلاك الإنسان	الأعراض على الإنسان **Human Symptoms**	

رابعاً : اسم المرض مرض التقزم الصدأى TCK Smut (Dwarf Bunt)

القمح، الشعير، Rye،الأعشاب البرية والمنزرعة	الحبوب المتأثرة Grain Affected	
لا يوجد	السموم الفطرية Mycotoxin	
Tilletia controversa	المسبب المرضى Pathogen	Photo 30. head infected with dwarf bunt (APS)
النباتات المتأثرة تكون ربع إلى نصف الحجم العادي. العصافات التى تحيط بقاعدة السنبلة تنتشر بعيداً عن كرات الصدأ	الأعراض Symptoms	
درجة الحرارة 3-5م مقتصرة على المناطق التى يكون فيها الشتاء معرض للثلوج فتره طويلة.	الظروف Conditions	
في أول الأمر بواسطة التربة ثم تبدأ في الإنبات تحت الثلوج أو عند سطح التربة	انتشار الجراثيم أو المادة المسببة للمرض Inoculums Dispersal	Photo 31. Teliospores of *T. controversa* (APS)
يمكن أن تصمد فى التربة حتى ١٠ سنوات	بقاء الجراثيم Survival Inoculums	
خفض فى الناتج ونوعيه الحبوب، تسبب رائحة نفاذه مثل رائحة السمك ومظهر داكن. جراثيم الصدأ Bunt spores المنفردة أثناء دراسي المحصول تكون قابله للاحتراق مما قد يؤدى إلى حرائق.	التأثير على المحصول Effect on Crop	Photo 32. Teliospore cloud during harvest of dwarf bunt infected wheat (AP

استخدام أصناف قمح مقاومه، تطبيق مبيدات فطريه على سطح التربة بعد الإنبات	الاداره Management	
لا يوجد	التأثير طبقاً لمستوى إدارة الأغذية والدواء Food and Dry Administration (FDA) Action level	
لا يوجد	التأثير على الدواب Livestock Affected	
لا يوجد	الأعراض على الدواب Livestock Symptoms	
لا يوجد	الأعراض على الإنسان Human Symptoms	





التلوث بالعفن المنتج للسموم الفطرية ما بعد الحصاد بواسطة كل من
Aspergillus and Penicillium

جدول (17) ملخص للسموم الفطرية الرنيسية ، الفطريات الملوثة، الحيوانات المتأثرة، أعراض السمية :

السم الفطرى Mycotoxin	الفطريات المصاحبة Fungi associated	المنتجات الملوثة Contaminated products	الحيوانات المتأثرة Animal affected	أعراض السمية / التأثيرات الطبية Symptoms/ Clinical effects
Aflatoxins B1,B2,G1,G2	*Aspergillus flavus,* *A. parasitic* *A. nomius*	**Corn, peanuts, cotton seeds, tree nuts**	**Swine, dogs, cats, Cattle, sheep, young birds, humans**	**Liver damages (necrosis, tumors), reduced growth, depressed immune response, carcinogen, intestinal bleeding**
Aflatoxins M1,M2	*Metabolites of aflatoxinis B1 and B2*	**Milk and dairy products**		
Ergot alkaloids	*Claviceps purpuarea* *C. paspali,* *C. afriana*	Rye, sorghum, pasture grasses	Cattle, sheep, humans	**Hallucinations, gangrene, loss of limbs, hastening of birth**
Fumonisins	*Fusarium moniliforme,* *F. proliferatum*	**Corn, silage**	**Horses, swine, humans**	**Pulmonary edema, equine leukoencephalomalacia, esophageal cancer, neural tube defects, liver damage, reduced growth**
Ochratoxins	*Penicillium verrucosum* *Aspergillus ochraceus*	**Cereal grains, coffee beans, grapes.**	**swine, humans**	**Kidneys and liver damages, Cancer**

Trichothecenes	*F.sportotrichioides, F. poae, F. graminearum, F. culmorum*	**Wheat, barley, oats, corn, cereals**	**Swine, dairy cattle poultry, horses, humans**	**Feed refusal, diarrhea, vomiting, skin disorders, reduced growth, necrosis, alimentary, toxic aleukia, hemorrhages, oral lesion in broiler chickens**
Zearalenone	*F. graminearum, F. culmorum F. crookwellense*	**Corn, hay**	**Swine, dairy cattle**	**Enlargement of uterus, abortion, malformation of testicles and ovaries**
Deoxynivalenol (DON)	*F.graminearum*	**Wheat, barley, maize**	**swine, Cattle, humans, chicken**	**Feed refusal, reduced weight, diarrhea, vomiting**
Patulin	*P. expansum*	**Apple juice and apple related products**	**Animals, humans**	**tumorgenic**
Citrinin	*Penicillium citrinum, Aspergillus Sp.*	**rice**		**Kidney damage**
Cyclopiazonic acid	*Penicillium Sp., Aspergillus Sp.*			**Neurotoxin**
Sterigmatocyst-in	*Aspergillus Sp.*, others			**Carcinogen, mutagen**

المراجع
References

المراجع
References

Anyanwu, E. C. (2008). The validity of the environmental neurotoxic effects of toxigenic molds and mycotoxins . *The Internet Journal of Toxicology,5(2):1559*

Baily , J. D. and P. Guerre (2009). Mycotoxins in Meat and Processed Meat Products. *Food Microbiology and Food Safety.*

Barkai-Golan, R. and N. Paster (2008). Mouldy fruits and vegetables as a source of mycotoxins: part1. *World Mycotoxin Journal*, 1(2): 147-159.

Diaz,C.J. and H.W.Murcia (2010).Biotransformation of aflatoxin B1 and relationship with the differential toxicological response to aflatoxin in commercial poultry species. *Facultad de Medicina Veterinariay de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia, Bogota D.C.,Colombia.(www.intechopen.com)*

Eaton, L.D. and P.E. Gallagher (1994). Mechanisms of aflattoxin carcinogenesis . *Annu.Rev.Pharmacol.Toxicol. , 34 : 135 – 172*

EU : Commission Regulation (EC) No. 1881/ 2006 of 19 December (2006) , as amended , on setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs.

Guengerich, F.P. and T. Shimada (1998). Activation of procarcinogens by human cytochrome P450 enzymes. *Mutation Research /Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis,400(1-2):201-213.*

Humpf, H.U. and K.A. Voss (2004). Effects of thermal food processing on the chemical structure and toxicity of fumonisin mycotoxins. *Mol. Nutr. Food Res., 48 : 255 – 269 .*

Johnson, W.W. ; T.M. Harris and F.P. Guengerich (1996). Kinetics and mechanism of hydrolysis of aflatoxin B1 exo-8,9-epoxide and rearrangement of the dihydrodiol. *J.American Chemical Society,118(35):8213-8220.*

Kiessling, K.H. (1986). Biochemical mechanism of action of Myctoxins . *Pure & Appl. Chem., 58(2): 327 – 338.*

Krishnamachari, K.A.V.R., Bhat, R.V., Nagarajan, V. and Tilak, T.B.G. 1975. Investigations into an outbreakof hepatitis in parts of Western India.
Indian. J. Med. Research 63: 1036-1048.

Kuhn, D.M. and M.A. Ghannoum (2003). Indoor mold, toxigenic fungi, and *Stachybotrus chartarum* : Infection disease perspective.
Clin. Microbiol. Rev., 16(1):144 – 172.

Lee, S.E. and B.C. Cambell (2000). In vitro metabolism of Aflatoxin B1 by larvae of navel orange worm and codling moth.
Arch. Insect Biochem. Physiol., 45: 166 – 174.

Madden, U.A. and H.M.Stahr (1992). Effrct of soil on aflatoxin tissue retention in chicks added toaflatoxin – contained poultry rations .
Veterinary&HumanToxicology,34: 521-523.

Mahendra, K.Rai , S.R.Bonde , A.P.Ingle and A.K.Gade (2012) . Mycotoxin : rapid Detection, differentiation and safety.
J.Pharm.Educ.Res. 3(1) :

Marin – Kuan, M. , V.Ehrlich, T.Delatour, C.Cavin, and B.Schilter (2011). Evidence for a role of oxidative stress in the carcinogenicity of ochratoxin A.
J. Toxicology ,2011, Article ID 645361:1-15.

Miller, D.M., D.M. Wilson, R.D. Wyatt, J.K. Mckinney,W.A. Crowell and B.A. Stuart (1982). High performance liquid chromatographic determination and clearance time of aflatoxin residues in swine tissues.
J. Assoc.Official Analytical Chemists,65:1- 4.

Patreson, D.S.P:(1977). Metabolism of aflatoxin and other Mycotoxins in relation to their toxicity and the accumulation of residues in animal tissues.
Pure Applied Chemistry, 49:1723 – 1731.

Rai, M.K. ; S.R. Bonde ; A.P.Ingle and A.K.Gade (2012). Mycotoxin: rapid detection, differentiation and safety.
J. Pharm. Educ. Res., 3(1):

Rany,K.D. ; B.Coles ; F.P. Guengerich and T.M.Harris (1992). The endo-8,9-epoxide of aflatoxin B1: A new metabolite.
Chem. Research in Toxico.,15(3):333- 335.

Schmale, D.G. and G.P. Munkvold (2013).
Mycotoxins in crops: A Threat to human and Domestic animal health.
The American Phytopathologicl Society,

Stoloff, L. 1977. Aflatoxins - an overview. In "Mycotoxins in Human and Animal Health",
Park Forest South, Illinois: Pathotos Publishers. pp. 7-28.

Terao, K. 1983. Sterigmatocystin - a masked potent carcinogenic mycotoxin.
J. Toxicol. Tox. Rev. 2: 77-110.

Ueno, Y. and Ueno, I. 1972. Isolation and acute toxicity of citreoviridin, a neurotoxic mycotoxin of Penicillium citreoviride Biourge.
Jap. J. Exp. Med. 42: 91-105.

United States Department of Agriculture (2006).
Grain fungal diseases and mycotoxin reference.
Grain Inspection Packers and Stockyards Administration:4-35

Uraguchi, K. 1969. Mycotoxic origin of cardiac beriberi.
J. Stored Prod. Research 5: 227-236.

Young, J.C., H. Zhu and T. Zhou (2006) . Degradation of Trichthecene mycotoxins by aqueous ozone .
Food and Chemical Toxicology, 44:417- 424.

Wayne L. Bryden (2007). Mycotoxins in the food chain: human health implications.
Asia .Pac. J. Clin. Nutr., 16(1): 95 – 101.

Wildl, C.P. and P.C. Turner (2002). The toxicology of aflatoxins as a basis for public health decisions
Oxford J. Mutagenesis, 17(6):471 – 481.

Worldwide Regulations for Mycotoxins (1997). FAO Food and Nutrition Papre, No.64,Roma.

Wu, F. (2006). Mycotoxin reduction in Bt corn: potential economic, health, and regulatory impacts.
Transgenic Research, 15:277-289.


الشيمى للطباعة


الشيمي للطباعة



الأستاذ الدكتور
محمد عبد الفتاح طه دشيش

أستاذ كيمياء وسمية المبيدات قسم كيمياء المبيدات - كلية الزراعة - الشاطبى - جامعة الإسكندرية.

* المقررات الدراسيه والاهتمامات العلميه :

.. الكيمياء العضويه، كيمياء المبيدات واختباراتها البيولوجية والتطبيقية

.. تحضير المركبات العضوية واختباراتها البيولوجيه على الآفات المختلفة .

.. عزل المركبات العضوية الطبيعية والتعرف عليها من النباتات والحشائش واختبارها فى صورة مبيدات على الآفات المختلفه .

- قام بالإشراف على العديد من رسائل الماجستير والدكتوراه فى مجال كل من مبيدات الحشائش،
الفطريات والقوارض والحشرات والكيمياء العضوية.

- اشترك فى العديد من اللجان والجمعيات العلمية و المؤتمرات العلمية المتخصصة المحلية والاقليميه والعالمية .

- الإشراف على مشاريع بحثيه للتوصل الى مواد بديلة للمبيدات .

-تنحصر الاهتمامات العلمية فى مجال كيمياء المبيدات وتأثيراتها البيولوجية والتطبيقية، والتأثيرات الجانبية على الإنسان والبيئة ، ومكافحة الآفات والتلوث.

- وضع فكرة وتجهيز والإشراف على مؤتمر المبيدات ما لها وما عليها فى 7-6 /9 /2006

مهمة علمية من جامعة كورنل - قسم البيوتكنولوجى والكيمياء الحيويه بالولايات المتحدة الأمريكية من 1 / 8 / 1988 الى 1 / 8 / 1990 .

* قام بإصدار الكتب التالية :

- القوارض (2001) حياة وسلوك - مبيدات ومكافحة وتأثيراتها على البيئة - منشأة المعارف بالإسكندرية.

- كيمياء المركبات الحلقية غير المتجانسة (2012) - مكتبة بستان المعرفة لطباعة ونشر وتوزيع الكتب.

هذا الكتاب

لمن يرغب في المعرفة والبحث في مجال السموم الفطرية Mycotoxins وعلاقتها بصحة الإنسان والبيئة والنظم البيولوجية.
يشمل هذا الكتاب: تمهيد عن الفرق بين الفطريات المنتجة وغير المنتجة للسموم الفطرية.
و المحاولات المبكرة لإثبات وجود السموم الفطرية ومدى استعمال السموم الفطرية كسلاح بيولوجي.
و التعرف على السموم الفطرية الرئيسية وتصنيفها وعلاقتها بصحة الإنسان وأنواع الأمراض وأعراضها التي تصيب الإنسان بسبب السموم الفطرية لنواتجها الحيوية وعلاقتها بسرطان الكبد وأعراض السرطان الأخرى والعلاقة مع الفيروسات والمتطفلات ، ومتبقياتها في أنسجة الحيوانات وتواجد السموم الفطرية في سلسة الطعام والبيئات الداخلية. والأمراض التي تصيب الحيوانات بسبب السموم الفطرية مع تقسيم السموم الفطرية طبقاً لمواضع التأثير. كما شمل علاقة الإصابة الحشرية بالتلوث الفطري والتداخل بين الحشرات والسموم الفطرية وميكانيكيه إزالة سمية السموم الفطرية بواسطة الحشرات. و الاهتمام بالسموم الفطرية في اللحوم ومنتجات اللحوم المصنعة. وكيفية منع وخفض السموم الفطرية وكذلك كيمياء ومكافحة السموم الفطرية وتأثيرها على صناعة الغذاء
وشمل الكتاب علي بعض الأمثلة المصورة لبعض الفطريات المنتجة للسموم الفطرية على المحاصيل المختلفة مقارنة لصور أخرى لفطريات غير منتجة للسموم الفطرية.



